

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS



“Efecto antimicrobiano de extractos de *Allium sativum* L.
“ajo” sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli* ATCC
25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”

PRESENTADA POR:

Leny Salazar Córdova

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
BIÓLOGO

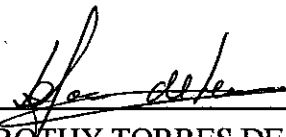
Piura, Perú

2014



Br. LENY SALAZAR CORDOVA

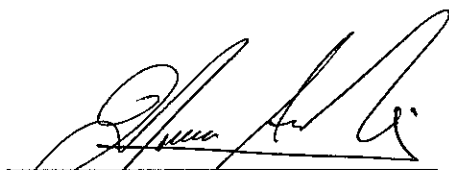
EJECUTORA DE TESIS



Mchlga. DOROTHY TORRES DE LEÓN

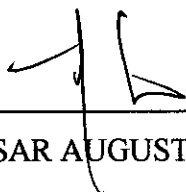
M.Sc.

ASESORA DE TESIS



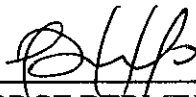
Ing. ELMER ARENAS RÍOS

CO-ASESOR DE TESIS



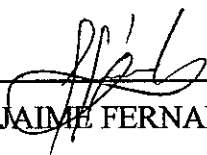
Mchlgo CÉSAR AUGUSTO TORRES DÍAZ M.Sc.

PRESIDENTE DEL JURADO



Mchlgo JORGE BERMEJO BENITES

SECRETARIO DEL JURADO



Mchlgo JAIME FERNANDEZ PONCE

VOCAL DEL JURADO

DEDICATORIA

En ~~el~~ primer lugar a Dios por darme fortaleza espiritual para seguir adelante y cumplir mis metas y sueños, por enseñarme a caminar en este mundo seguro de que está conmigo.

A mis padres; Salvador y Natalia, que con sus sabios consejos me han sabido guiar y acompañar durante toda mi vida, demostrando su amor incondicional y su gran disposición para ayudarme en todo momento.

A mis hermanos; Yuliana, Judith, Carolina y Diego que con su ayuda, su amor han demostrado su preocupación por mí y su felicidad por verme culminando una de mis metas.

A mis familiares que se alegran con este triunfo y han estado apoyándome con sus oraciones y su cariño.

A mis amigos que me apoyaron de manera muy especial, brindándome su afecto, tiempo, una palabra de aliento, acompañándome en los momentos en que más los necesité.

AGRADECIMIENTOS

A la universidad Nacional de Piura que en el transcurso de mi formación académica proporcionaron los conocimientos necesarios para llevar a cabo mi trabajo de tesis

A cada uno de los docentes de la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas que brindaron su conocimiento, tiempo e interés por formar profesionales de calidad.

A la Mblga M.Sc. Dorothy Torres de León, por ser mi asesora en la elaboración de mi Trabajo de Grado, por su apoyo y paciencia, aportándome en todo momento recomendaciones que fueron de gran utilidad para la realización del mismo, además, suministró las instalaciones, equipos y materiales del Laboratorio de Microbiología para poder llevar a cabo esta investigación.

A los Docentes Ing. Elmer Arenas Ríos, Ing. Mayer Ganosa Yupanqui, Br. Mblgo Mirko Lino Navarro y los técnicos Carlos Domínguez y Martín Viera de los laboratorio de Bioquímica y Microbiología de la Escuela de Biología.

CONTENIDO

RESUMEN	Pag.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIAL Y MÉTODOS	7
2.1. MATERIAL VEGETAL	7
2.1.1. Obtención y purificación de extracto acuoso, metanólico y etanólico.....	7
2.1.2. Dilución de los diferentes extractos	8
2.2. DETECCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS	8
2.2.1. Flavonoides	8
2.2.2. Saponinas	9
2.2.3. Taninos.....	9
2.2.4. Aminoácidos sulfurados.....	9
2.3. PREPARACIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO.....	9
2.3.1. Cepas control.....	9
2.3.2. Controles	10
2.3.3. Medios de cultivo.....	10
2.4. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO	10
2.4.1. Método de difusión en agar (disco difusión).....	10
2.4.2. Técnica para la obtención de la concentración inhibitoria mínima (CMI)	12
2.5. ANÁLISIS DE DATOS.....	14

III.RESULTADOS.....	16
3.1. ESTUDIO QUÍMICO DE EXTRACTOS <i>Allium sativum</i> “AJO”	16
3.2.EFECTO ANTIMICROBIANO.....	17
3.2.1. Susceptibilidad antibacteriana de los diferentes extractos de <i>A. sativum</i> “ajo”	17
3.2.2. Promedio de halo de inhibición según la cepa control.....	18
3.2.3. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) según las cepas control	19
3.2.4. Porcentaje del Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR).....	19
3.2.ANÁLISIS ESTADÍSTICO	21
3.3.1 Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de <i>Allium sativum</i> frente a <i>Escherichia coli</i>	21
3.3.2 Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de <i>Allium sativum</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	23
3.3.3. Análisis del Efecto antimicrobiano entre los tratamientos y controles frente a <i>Escherichia coli</i>	76
IV.DISCUSIÓN	25
V.CONCLUSIONES	32
VI.RECOMENDACIONES.....	33
VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
VIIILANEXOS.....	41
ANEXOS 1.- CUADROS DE PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA	41
ANEXOS 2.-PRUEBAS ESTADÍSTICAS.....	43
ANEXOS 3.- ESTÁNDARES INTERPRETATIVOS DE SENSIBILIDAD BACTERIANA.....	82
ANEXOS 4.- FIGURAS.....	83

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1.- Procedimiento para realizar dilución en tubo.	13
Cuadro 2.2.- Tratamientos que se utilizarán en la determinación del efecto antibacteriano del extracto de <i>Allium sativum</i> L. "ajo".	15
Cuadro 3.1.- Identificación cualitativa de algunos compuestos químicos de los extractos de <i>A. sativum</i> "ajo".	16
Cuadro 3.2.- Codificación de la susceptibilidad <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> , frente a los diferentes extractos de <i>A. sativum</i> "ajo"	17
Cuadro 3.3.- Promedio de halos de inhibición (mm) según las cepas control sobre los tratamientos evaluados.	18
Cuadro 3.4.- CIM de los extractos de <i>Allium sativum</i> L "ajo" por dilución en tubo sobre las cepas control.	19
Cuadro 3.5.- El PEIR de los diferentes extractos de <i>Allium sativum</i> "ajo" respecto a los controles positivos sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	20
Cuadro 3.6.- El PEIR de los diferentes extractos de <i>Allium sativum</i> "ajo" respecto a los controles positivos sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	20
Cuadro 7.1.- Halos de inhibición en mm de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de <i>A. sativum</i> L. "ajo" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 por difusión en agar.	41
Cuadro 7.2.- Halos de inhibición en mm de los extractos acuoso, etanólico y Metanólico de <i>A. sativum</i> L. "ajo" frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 por difusión en agar.	42
Cuadro 7.3.- Análisis de varianza del porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR).....	43

Cuadro 7.4.- Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.....	44
Cuadro 7.5.-Análisis de varianza del porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)	45
Cuadro 7.6.- Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.....	46
Cuadro 7.7.-Análisis de varianza del Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR).....	47
Cuadro 7.8.- Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.....	48
Cuadro 7.9.-Análisis de varianza del Porcentaje de efecto inhibitorio relativo (PEIR)	49
Cuadro7.10.-Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.....	50
Cuadro 7.11.- Análisis de Varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Cloranfenicol).....	51
Cuadro 7.12.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobianos entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol).....	52
Cuadro7.13.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Amikacina).....	53
Cuadro 7.14.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Amikacina).	54
Cuadro 7.15.- Análisis de Varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Cloranfenicol).....	55

Cuadro 7.16.-Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Cloranfenicol).....56

Cuadro 7.17.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto de Etanólico *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Amikacina).57

Cuadro 7.18.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Amikacina)58

Cuadro7.19.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control negativo (agua destilada).59

Cuadro 7.20.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control negativo (agua destilada).60

Cuadro 7.21.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Cloranfenicol).....61

Cuadro7.22.-Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Cloranfenicol).....62

Cuadro7.23.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto de Metanólico *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Amikacina).63

Cuadro 7.24.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Amikacina).64

Cuadro7.25.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Penicilina). ..65

Cuadro 7.26.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Penicilina).66

Cuadro 7.27.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Vancomicina).	67
Cuadro 7.28.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Vancomicina).....	68
Cuadro7.29.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Penicilina).	69
Cuadro 7.30.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Penicilina).....	70
Cuadro7.31.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Vancomicina).	71
Cuadro7.32.-Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Vancomicina).....	72
Cuadro 7.33.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Metanólico de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Penicilina).....	73
Cuadro 7.34.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto metanólico de <i>A. sativum</i> L. “ajo” y control positivo (Vancomicina).	74
Cuadro 7.35.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Vancomicina).....	75
Cuadro 7.36.-Sensibilidad bacteriana a los antibióticos de acuerdo con el diámetro de los halos de inhibición para estafilococos.....	82
Cuadro 7.37.-Sensibilidad bacteriana a los antibióticos de acuerdo con el diámetro de los halos de inhibición para enterobacterias.	82

Cuadro 7.38.- valores críticos del antibiograma, los valores de las concentraciones y de los diámetros críticos que delimitan las categorías sensibles, intermedias y resistentes.....82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1.- PEIR de extractos de *A. sativum* respecto al control (C) sobre *E. coli*.....21

Figura 3.2.-PEIR de extractos de *A. sativum* respecto al control (MK) sobre *E. coli*.....21

Figura 3.3.-Sensibilidad de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a tratamientos evaluados.....22

Figura 3.4.- PEIR de extractos de *A. sativum* respecto al control (P) sobre *S. aureus*.....23

Figura 3.5.- PEIR de los extractos de *A. sativum* respecto al control (VA) sobre *S. aureus*.....23

Figura 3.6.- Sensibilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a los tratamientos evaluados de extractos de *A. sativum* “Ajo”.....24

Figura 7.1.- Diámetros de halos de inhibición respecto a las concentraciones del extracto acuoso de *A. sativum* “ajo” y controles positivos sobre *E. coli*. 76

Figura 7.2.- Diámetros de halos de inhibición respecto a las concentraciones del extracto etanólico de *A. sativum* “ajo” y controles positivos sobre *E. coli*.
.....77

Figura 7.3.- Diámetros de halos de inhibición respecto a las concentraciones del extracto metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y controles positivos sobre *E. coli*.
.....78

Figura 7.4.-Diámetros de halos de inhibición respecto a las diluciones del extracto acuoso de *A. sativum* “ajo” y controles positivos sobre *S. aureus*....79

Figura 7.5.-Diámetros de halos de inhibición respecto a las diluciones del extracto etanólico de <i>A. sativum</i> “ajo” y controles positivos sobre <i>S. aureus</i> .	80
Figura 7.6.-Diámetros de halos de inhibición respecto a las diluciones del extracto metanólico de <i>A. sativum</i> “ajo” y controles positivos sobre <i>S. aureus</i> .	81
Figura 7.7.- Características macroscópicas y microscópicas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	83
Figura 7.8.- Características macroscópicas y microscópicas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	83
Figura 7.9.- Detección de flavonoides negativa por reacción de Shinoda en extractos de <i>A. sativum</i> .	84
Figura 7.10.-Presencia de saponinas por prueba de la espuma en extractos de <i>A. sativum</i>	84
Figura 7.11.-Presencia de taninos negativa mediante reacción con cloruro férrico en extractos de <i>A. sativum</i>	84
Figura 7.12.-Presencia de alicina (naranja) y aliina (azul- violeta) por examen de cromatografía de capa fina en extracto de <i>A. sativum</i>	84
Figura 7.13.-Reporte de análisis de cromatografía en capa fina	86
Figura 7.14.-Diluciones de extracto acuoso de <i>A.sativum</i> sobre cepas bacterianas.	87
Figura 7.15.-Diluciones de extracto etanólico de <i>A.sativum</i> sobre cepas bacterianas.	87
Figura 7.16.-Diluciones de extracto metanólico de <i>A.sativum</i> sobre cepas bacterianas.	87

Figura 7.17.- Discos de sensibilidad (controles positivos).....	88
Figura 7.18.- <i>E. coli</i> : Amikacina(MK30), Cloranfenicol (C30),agua destilada estéril.....	88
<i>S. aureus</i> : Penicilina (P10), Vancomicina(VA30), agua destilada estéril	88
Figura 7.19.-Medición de halos de inhibición de extracto de ajo y control positivo.....	88
Figura 7.20.-Serie de tubos con concentraciones crecientes del antibiótico (solución de extracto de ajo) en el medio de cultivo	89
Figura 7.22.-CMI del extracto acuoso (Ex. Ac) de <i>A. sativum</i> en inóculo (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922) corresponde al tubo nº07.	91
Figura 7.23.-CMI del extracto acuoso (Ex. Ac) de <i>A. sativum</i> en inóculo (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922) que corresponde al tubo nº 08.....	91
Figura 7.24.-CMI del extracto etanólico (Ex. Eta) de <i>A. sativum</i> en inóculo (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922) que corresponde al tubo nº 06.	91
Figura 7.25.-CMI del extracto etanólico (Ex. Eta) de <i>A. sativum</i> en inóculo (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923) que corresponde al tubo nº 06.....	92
Figura 7.26.-CMI del extracto metanólico (Ex. Met) de <i>A. sativum</i> en inóculo (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922) que corresponde al tubo nº 06.	92
Figura 7.27.-CMI del extracto metanólico (Ex. Met) de <i>A. sativum</i> en inóculo (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923) que corresponde al tubo nº 07.....	92

RESUMEN

Se determinó el efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *Allium sativum* L “ajo”, que se obtuvieron por maceración del extracto puro de ajo con los solventes etanol y metanol a los cuales se realizó detección de algunos compuestos químicos como saponinas y aminoácidos sulfurados. Los diferentes extractos de *A. sativum* obtenidos, se ensayaron en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %. Mediante los métodos de difusión en agar y dilución en tubo se determinó la eficacia antimicrobiana. El extracto acuoso presentó mayor efecto inhibitorio sobre *Escherichia coli*, en cambio el extracto acuoso y extracto metanólico mayor efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus*; la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) para *E. coli* fue 0.78 % v/v del extracto acuoso, mientras para *S. aureus* fue 0.39 % v/v del extracto acuoso.

La concentración de 100 % del extracto acuoso *A. sativum*, presentaron igual efecto antimicrobiano que Cloranfenicol y Amikacina sobre *E. coli* y superaron el efecto antimicrobiano de Vancomicina sobre *S. aureus*.

Palabras claves: *Allium sativum*, extracto, inhibición, sensibilidad, efecto antimicrobiano.

ABSTRACT

There determined the antimicrobial effect on *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 of the extracts watery, etanólico and metanólico of *Allium sativum* L "garlic", that obtained for maceration of the pure extract of garlic with the solvents ethanol and methanol to which they there was realized detection of some chemical compounds as saponinas and sulfurated amino acids. The different extracts of *A. sativum* obtained, they practised in concentrations of 25 %, 50 %, 75 % and 100 %. By means of the methods of diffusion in agar and dilution in pipe decided the antimicrobial efficiency. The watery extract presented major inhibitory effect on *Escherichia coli*, on the other hand the watery extract and I summarize metanólico major inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*; the Minimal Inhibitory Concentration (CIM) for *E. coli* was 0.78 % v/v of the watery extract, while for *S. aureus* was 0.39 % v/v of the watery extract.

The concentration of 100 % of the watery extract *A. sativum*, they presented equal antimicrobial effect that Cloranfenicol and Amikacina on *E. coli* and they overcame Vancomicina's antimicrobial effect on *S. aureus*.

Keywords: *Allium sativum*, extract, inhibition, sensitivity, antimicrobial effect.

I. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos prehistóricos el hombre viene utilizando plantas con fines medicinales, alimenticios y cosméticos. Actualmente existen especies de plantas promisorias de uso etnofarmacológico que son fuentes de información para el descubrimiento de posibles sustancias con importante actividad biológica.

El Perú es un país rico en recursos naturales y sustenta esa riqueza en su gran biodiversidad; se tiene el beneficio de contar con plantas medicinales para todo tipo de dolencias. La costa, sierra y selva poseen gran surtido de plantas que poco a poco la ciencia va aceptando sus bondades curativas, incrementando el interés por los agentes antimicrobianos derivados de vegetales¹, cuyas propiedades farmacológicas se debe a los metabolitos o compuestos secundarios que ejercen su efecto una vez cuando han sido ingeridos o aplicados en infusiones, cataplasmas y otras preparaciones². Los cuales pueden ser fuente inagotable de medicamentos modernos, nutraceuticos, suplementos alimenticios, medicina tradicional, intermediarios farmacéuticos y entidades químicas para el desarrollo de drogas sintéticas; es por eso el interés de las industrias de los alimentos, en el uso de extractos de plantas en alimentos procesados, debido a su potencial utilidad como sustitutos a los antimicrobianos sintéticos y además a que pueden incrementar las propiedades benéficas de los alimentos como su actividad antioxidante³.

La proliferación de enfermedades causada por microorganismos patógenos es de gran preocupación y constituye un factor de riesgo para la salud pública⁴. Dentro de estos microorganismos, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* son las bacterias que con mayor frecuencia causan infecciones tanto a nivel ambulatorio como intrahospitalario representando un serio problema para el área de la salud, debido al incremento de la resistencia bacteriana frente a la terapia antimicrobiana, generado principalmente por el

uso indiscriminado e irresponsable de los antimicrobianos, por cuenta de empíricos y aún de los mismos enfermos, daría la ventaja para desarrollar resistencia a tratamientos activos⁵.

Se entiende por resistencia el mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los agentes antimicrobianos, desarrollando varios mecanismos. Poseen un sistema, una especie de bomba expulsora que utilizan para la excreción de residuos y productos tóxicos, eliminando además muchos de estos agentes antibacterianos; disminuyen la permeabilidad de la pared bacteriana por pérdida o modificación de los canales de entrada y de la producción de enzimas inactivantes de los antibióticos⁶.

La emergencia de la resistencia bacteriana ha generado interés en la búsqueda de fuentes naturales que inhiban el crecimiento bacteriano. El modo de acción de los compuestos fitoquímicos, están definidos de acuerdo a la acción en la estructura bacteriana. Algunos interaccionan con los componentes celulares externos, como la membrana celular; la cantidad de lípidos dificulta la entrada y acción de compuestos hidrofílicos, originando cambios en la hidrofobicidad celular, liberando componentes intracelulares tales como potasio, fosfatos inorgánicos, proteínas y ácidos nucleicos. También puede haber disipación de protones, lo cual altera el transporte activo, la fosforilación oxidativa y por consiguiente la síntesis de ATP en bacterias y la interacción con los componentes citoplasmáticos como los *ribosomas*, responsables de la traducción de ARN mensajero³. Es por esto, que se buscan compuestos bioactivos de origen natural que inhiban el crecimiento bacteriano⁴.

Muchas hierbas y especias contienen aceites esenciales que son antimicrobianos con uso potencial; una de estas especies es *Allium sativum* L. conocido en algunos lugares por el nombre común de “ajo”. Es una hortaliza perteneciente a la familia de las Liliáceas; el término *Allium* procede de la palabra celta *all*, que significa ardiente o caliente, mientras *sativum* es un término latino que significa cultivado; es originario de Asia central y fue introducido en América en época de la conquista, ha sido cultivados por miles de años debido a sus propiedades terapéuticas,

profilácticas, por su significancia religiosa, su sabor y aroma. Esta hortaliza es un condimento natural por excelencia y forma parte de los hábitos alimentarios y terapéuticos de muchas culturas^{4, 8,9}.

El ajo (*Allium sativum* L.) es una planta perenne de la familia de las Liliáceas, llegan a medir hasta 50 cm de altura, con hojas planas, largas y replegadas y produce pequeñas inflorescencias reunidas en umbelas de hasta 8 mm de ancho, de flores verdosas o blanquecinas a veces rosadas, muy poco abundantes (algunas veces inexistentes) que sobresalen con su largo pedúnculo sobre una cabezuela de bulbillos (cabeza de ajo) formado por una envoltura blanca dentro de la cual se encuentran varios bulbos¹⁰.

El bulbo de ajo, contiene una elevada proporción de agua (65%). Presenta como componentes mayoritarios carbohidratos caracterizados por la presencia de fructosa, seguidos por compuestos azufrados, proteínas, aminoácidos libres, derivados fenólicos y fibra, así como un contenido apreciable en distintos minerales (fósforo, potasio, azufre, zinc) y saponinas, junto con niveles moderados de selenio y vitaminas A y C, pequeñas cantidades de otros minerales (calcio, magnesio, sodio, hierro, manganeso) y distintas vitaminas del complejo B¹¹.

Los principales compuestos azufrados son la aliína, alicina, ajoeno, trisulfuro de dialilo, salilcisteína, vinilditiínas, disulfuro de alilpropilo, S-alilmercapto cisteína, entre otros. Entre las enzimas importantes por su actividad antimicrobiana se encuentran la alinasa, peroxidasa y mirosinasa. Los aminoácidos y sus glucósidos, en especial la arginina, también influyen de manera importante en la actividad antimicrobiana, al igual que el selenio, germanio, telurio y trazas de otros minerales⁹. Los fructanos, flavonoides y los compuestos organoazufrados denominados fitoquímicos provienen de la reducción y asimilación del azufre de las plantas y son los responsables de las características de sabor y olor del ajo⁸.

El compuesto biológico más activo en el ajo es la alicina, que se genera por reacciones enzimáticas cuando el ajo se tritura o se corta. Este compuesto

se forma cuando la aliína, aminoácido azufrado inodoro que se encuentra en el citoplasma de las células del ajo fresco intacto, entra en contacto con la alinasa, enzima presente en la vacuola, como consecuencia de la ruptura celular causada por la trituración o el corte, enseguida la alicina experimenta degradación en forma rápida, permitiendo la formación muchos tipos de tiosulfatos a través de diferentes vías metabólicas, una de las cuales combina dos moléculas de alicina para formar tres moléculas de ajoeno. Por medio de otras degradaciones no enzimáticas se producen otros compuestos azufrados como los tiosulfatos mono, di, tri y tetrasulfuros, tioles, tiofenos y anhídrido sulfuroso. Además si los tiosulfatos al mezclarse con agua se transforman principalmente en trisulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo y alilmetiltrisulfuro¹².

Los derivados azufrados como el ajoeno, formado a partir de tres moléculas de alicina tienen mayor estabilidad que su precursor. Otros derivados azufrados presentes en los homogeneizados de ajo son el alilmetiltiosulfonato, 1-propenil-alil tiosulfonato y la YL-glutamyl-S-alil-L-cisteína. La conservación a temperatura ambiente de estos homogeneizados da lugar a un notable incremento en la concentración de adenosina¹³.

Como señala Arteche et al¹⁴, en los últimos 30 años se han realizado numerosos estudios, tanto in vitro como in vivo, sobre la química y las propiedades farmacológicas del ajo. Se han documentado muchas de sus propiedades, entre las que destacan su acción antioxidante, hipolipemiante, antiaterogénica, antitrombótica, hipotensora, antimicrobiana, antifúngica, anticarcinogénica, antitumorogénica e inmunomoduladora. Todas estas propiedades farmacológicas se le atribuyen principalmente a sus componentes azufrados.

Se han realizado varios estudios acerca de las propiedades del ajo compuestos químicos, ensayos in vitro y ensayos clínicos. Espinoza et al¹⁵, evaluaron los compuestos químicos fructanos, fenoles totales y ácido pirúvico en las diferentes variedades de ajos para seleccionar los cultivares con mejores características químicas para la prevención de enfermedades. Córdova¹², indica

que el método de extracción sólido - líquido permitió la obtención de extractos orgánicos totales con un gran contenido de compuestos sulfurados e importancia y propiedades nutraceuticas. Además Martínez et al¹⁶, mediante cromatografía evidenció las sustancias alicina y aliína.

Fuselli et al¹⁷, efectuaron un estudio microbiológico durante la deshidratación y el almacenamiento de ajo (*Allium sativum* L.) y de cebolla (*Allium cepa* L.). Según los resultados obtenidos demostraron que con la incorporación del salmuereado la microflora se redujo significativamente hallándose solamente *Penicillium spp.*

Maidment et al¹⁸, evaluaron los efectos antibióticos de los ajos (*A. sativum*) sobre las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus albus*. Encontraron que el número de bacterias se redujo a medida que aumentaban la concentración de ajo. Al igual Alves¹⁹, controló el crecimiento de la microbiota mesófila aerobia, coliformes fecales y *Salmonella* sobre carnes de aves de corral.

Según Navarro¹³, los extractos de ajo se mostraron activos in vitro con amplio espectro de acción frente a bacteria gram positivas y gram negativas. Como en el estudio de López¹¹, frente a *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Clostridium*, *Leptotrichia* y *Mycobacterium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *S. aureus* y *Enterococcus faecalis*. Además Pesantez⁷, determinó el efecto bacteriostático de la pasta de *Allium sativum* L. (ajo) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* en embutido crudo.

Por otro lado Hernandez²⁰, señaló que los extractos de ajo revelaron actividad inhibitoria y letal contra *E. coli* y *L. innocua*. Así como, García y Herrera²¹, sobre *Staphylococcus aureus* y Ardila et al²², frente a *Clostridium perfringens*.

Del mismo modo Munayco²³, analizó la aplicación del extracto hidroalcohólico para determinar la acción antimicrobiana sobre bacterias estándares de la cavidad oral en humanos y Cahuas et al²⁴, analizaron en su

forma liofilizada determinando que posee efecto antimicótico *in vitro* sobre dermatofitos y *Candida albicans*.

También se han efectuado ensayos clínicos en donde Wagner²⁵, realizó modelos *in vitro*, sobre la posible acción antitumoral y los efectos beneficiosos en la prevención de la aterosclerosis. Concluye, que el ajo puede ser un fármaco eficaz en la prevención y tratamiento de la aterosclerosis.

Por estos motivos, se propone varias formas de extracción mediante maceraciones con diferentes solventes. Para evaluar las concentraciones de estos extractos comparando su eficacia con los principales antibióticos que se encuentran en el mercado para el tratamiento de las cepas control usados.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* "ajo"; extractos acuoso, etanólico y metanólico sobre el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* ATCC 25922 y de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

El proyecto se realizó dentro de las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la escuela profesional de Ciencias Biológicas y del laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional de Piura.

2.1. MATERIAL VEGETAL

Se trabajó con bulbos de *Allium sativum* “ajo” que fueron adquiridos en el mercado de Piura.

2.1.1. Obtención y purificación de extracto acuoso, metanólico y etanólico

Se empleó 600 gr de ajo (*Allium sativum*), fueron descascarados y luego lavados con agua destilada seguido de una desinfección con hipoclorito de sodio a una concentración de 200 ppm durante 5 minutos, como lo menciona Mercado y Arévalo²⁶. Se realizaron enjuagues con suficiente agua destilada estéril, para retirar el hipoclorito residual, luego se pasaron por el extractor común Oster juices express plus 220 de 100 r.p.m durante 2 a 3 minutos aproximadamente, obteniendo un volumen de 250 ml de extracto puro de ajo. Para la obtención del extracto acuoso, se agregó 70 ml del extracto puro de ajo en frascos de vidrio de color ámbar, los cuales se dejaron en maceración durante 6 días, modificado de Hernández²⁰ y se mantuvieron en refrigeración a 5°C. Transcurrido el tiempo se filtraron varias veces empleando gasas estériles hasta obtener el extracto acuoso modificado de Mercado y Arévalo²⁶. El extracto etanólico se obtuvo agregando en frascos de vidrio de color ámbar, 90 ml del extracto puro y 20 ml de etanol al 70 % se dejó macerar durante 6 días y se mantuvo en refrigeración a 5°C. Transcurrido el tiempo se filtró

varias veces empleando gasas estériles obteniendo el extracto etanólico²⁶. De la misma forma, para el extracto metanólico se agregó en frascos de vidrio de color ámbar 90 ml del extracto puro y 20 ml de metanol al 80 %; se dejó macerar durante 6 días y se mantuvo refrigerado a 5°C. Transcurrido el tiempo se filtraron varias veces empleando gasas estériles hasta obtener el extracto metanólico²⁶.

2.1.2. Dilución de los diferentes extractos

En un primer recipiente se vertieron 20 ml de cada extracto acuoso, metanólico y etanólico el cual se consideró a una concentración al 100 %, a partir de éste se hicieron diluciones con agua destilada estéril para obtener concentraciones al 75 %, 50 % y 25 % respectivamente, modificado de Mercado y Arévalo²⁶. Los extractos se guardaron en frascos de color ámbar y se mantuvieron refrigerados a 5°C.

2.2. DETECCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS

Detección de algunos compuestos químicos presentes en los diferentes extractos.

2.2.1. Flavonoides

Se realizaron ensayos directos sobre los extractos, usando la reacción de Shinoda, que consiste en agregar a una muestra del extracto pequeños trozos de cinta de magnesio seguido por gotas de ácido clorhídrico concentrado. Las coloraciones roja, azul o verde se consideran positivas para la presencia de flavonoides.

2.2.2. Saponinas

Se empleó la prueba de la espuma, que consiste en preparar una solución acuosa al 1% con el extracto, se utilizaron 5ml de esta solución en tubos de ensayo se agitaron vigorosamente por 30 segundos. La presencia de saponinas fue indicada por la formación de una espuma persistente por 30 minutos.

2.2.3. Taninos

Se utilizó la reacción con solución de cloruro férrico al 1%. Se colocaron 2ml de cada extracto en tubos de ensayo y se le agregó una gota de solución de cloruro férrico al 1% a cada uno. La formación de color verde oscuro o azul oscuro y la formación de un precipitado indican la presencia de taninos.

2.2.4. Aminoácidos sulfurados

Al extracto puro de *Allium sativum* “ajo”, se le realizó análisis de cromatografía en capa fina (Anexo 4) para evidenciar la presencia de estos compuestos mediante revelador de ninhidrina.

2.3. PREPARACIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

2.3.1. Cepas control

En el presente estudio se trabajó con dos cepas control, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Las cuales procedieron de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las cepas se hicieron crecer en agar nutritivo por un tiempo de 24 horas de incubación y se sembraron continuamente.

2.3.2. Controles

Como control negativo se utilizó agua destilada estéril y como control positivo siguiendo lo establecido por el INS²⁷, se utilizaron discos de sensibilidad Biodisc. SAC y Sensi-discTM de los antibióticos Cloranfenicol (C30 µg) y Amikacina (MK30µg) contra *Escherichia coli* ATCC 25922 y discos de sensibilidad de los antibióticos Penicilina (P10µg) y Vancomicina (VA30µg) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.3.3. Medios de cultivo

Los medios de cultivo utilizados fueron el agar Mueller-Hinton y caldo Mueller-Hinton. El Agar Mueller-Hinton se adicionó en placas de Petri para ensayo de sensibilidad antibacteriana y el Caldo Mueller-Hinton, se utilizó en tubos de ensayo para obtener la concentración inhibitoria mínima.

2.4. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO

La actividad antimicrobiana de los extractos acuosa, etanólico y metanólico de *Allium sativum* “ajo”, se evaluó por el método de difusión en agar y dilución en tubo INS²⁷, se realizaron tres repeticiones (Badii et al²⁸ 2007) por cada tipo de extracto.

2.4.1. Método de difusión en agar (disco difusión)

Una vez que se aislaron las colonias de microorganismos *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se procedió a seleccionar las colonias, se preparó la suspensión del inóculo hasta alcanzar el estándar de turbidez de 0.5 de Mc Farland, equivalente a 1.5×10^8 CFU/ml; se verificó usando un espectrofotómetro modelo Vegas 400, con absorbancia de 625 nm entre el intervalo 0.098 y 0.10, después de ajustado el inóculo de cada microorganismo se realizó el sembrado en las placas de Mueller- Hinton, se colocaron los discos

con el extracto y concentración correspondiente, se incubaron las placas a 35C° durante 24 hrs y se midieron los diámetros de halos de inhibición empleando vernier de 0.05 mm de sensibilidad e interpretaron los resultados.

❖ Preparación de discos de sensibilidad

Se prepararon a partir de papel filtro empleando un perforador convencional. Estos discos fueron esterilizados en autoclave a 121° C x 15 libras de presión x 15 minutos. Luego se agregaron a cada uno de los discos 20µl²⁹ las concentraciones del 25 %, 50 %, 75 % y 100 % de los diferentes extractos, acuoso, etanólico o metanólico y se dejaron secar a temperatura ambiente.

❖ Preparación de agar Mueller-Hinton

Para el medio de cultivo se pesaron 6.8 gramos del agar se disolvieron en 200 ml de agua destilada, luego de esterilizar en autoclave y dejar enfriar en baño de agua hasta 45-50°C. Se vertieron en placas Petri 25 - 30 ml y cuatro mm de grosor de fondo. Siguiendo las indicaciones de Merk³⁰.

❖ Inoculación de las Placas

Con un hisopo de algodón estéril, se sumergió en la suspensión bacteriana y se removió el exceso, luego se inocularon la superficie seca de la placa con agar de Mueller-Hinton en tres direcciones. Antes de colocar los discos se dejaron secar las placas a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos. INS²⁷.

❖ Aplicación de los discos

Se colocaron los discos individuales de menor a mayor concentración de los extractos sobre la superficie del agar de Mueller- Hinton con ayuda de pinzas estériles presionando suavemente para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

❖ Enfrentamiento

Los discos cargados con los diferentes extractos y concentración, los controles positivo y control negativo se colocaron sobre placas sembradas con *Escherichia coli* ATCC 25922 o *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Cada placa fue rotulada con el nombre de la cepa utilizada, el tipo de extracto ya sea acuoso, etanólico o metanólico y la dilución del extracto.

❖ Lectura de las placas e interpretación de los resultados

Se midieron los diámetros de las zonas de inhibición empleando un vernier de sensibilidad de 0.05 mm y fueron categorizados como sensible (S), resistente (R) o intermedio (I) de acuerdo a los criterios dados del INS²⁷ en el Cuadro adjunto en Anexo 3.

2.4.2. Técnica para la obtención de la concentración inhibitoria mínima (CMI)

La CMI es la concentración más baja del agente antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento visible de una cepa control al cabo de 18 – 24 horas de incubación.

❖ Método de dilución en tubo

Se requiere una serie de tubos para cada tipo de extracto con caldo Mueller -Hinton estéril con un volumen final mínimo de 1 ml en cada tubo, los cuales contienen el extracto de ajo en estudio a distintas concentraciones. La suspensión del inóculo se ajusta hasta alcanzar el estándar de turbidez de 0.5 de Mc farland, se verificó usando un espectrofotómetro modelo Vegas 400 con absorbancia de 625 nm entre el intervalo 0.098 y 0.10, del inóculo de *Escherichia coli* ATCC 25922 o *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

De la solución de los extractos al 100 % de los extractos acuoso etanólico y metanólico de *Allium sativum* “ajo” a partir de estas soluciones madre se realizaron diluciones en caldo Mueller-Hinton hasta obtener el doble de la concentración del extracto de ajo que se desee obtener en el primer tubo de la CIM.

❖ Preparación de las diluciones seriadas

Se depositaron 0,5 ml de Caldo Mueller-Hinton estéril desde el tubo N° 2 al N° 12. Se agregaron 0,5 ml de solución del extracto *Allium sativum* “ajo” al tubo N°1 y N°2. Se mezclaron el tubo N°2 y se transfiere 0,5 ml del tubo N°2 al tubo N°3. Se continuó con el mismo procedimiento hasta el tubo N°10. Se descartaron 0,5 ml de la dilución del tubo N°10 y por último se agregaron 0,5 ml del inóculo de *E. coli* o *S. aureus* desde el tubo N°1 al N°11, obteniendo volúmenes de 1 ml en cada tubo. Cuadro 2.1, INS²⁷.

Cuadro 2.1.- Procedimiento para realizar dilución en tubo.

											C.I	C.E
TUBO N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CALDO MUELLER HINTON	---	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
SOLUCION DE ANTIBIOTICO CONTROL o EXTRACTO DE AJO	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	---	---
INÓCULO	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	---
VOLUMEN FINAL ML	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5

C.I: Control del inóculo, CE: Control de esterilidad.

❖ Incubación y lectura e Interpretación de los Resultados

Tiempo de incubación de 20– 24 h., 35°C, la lectura se realizó por observación directa sin ayuda de ningún aparato óptico. Se definieron por la falta de turbidez del caldo, para ello se compararon con el tubo de control de crecimiento del inóculo. INS²⁷.

❖ Recuento del Inóculo

Del tubo N° 11, que corresponde al control de crecimiento de *E. coli* o *S. aureus*. Se realizaron diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} en solución salina fisiológica. Se colocaron 0,1 ml de cada una de estas diluciones en una placa de Agar Mueller-Hinton partiendo de la más diluida a la más concentrada. Se distribuyó el inóculo en la superficie del agar en placas de Mueller- Hinton, se dejó incubar durante 20 – 24 hrs, a 35 °C. Después se realizó los recuentos de colonias verificando que la concentración del inóculo final se aproxime a 5×10^5 UFC/mL.

2.5. ANÁLISIS DE DATOS

El porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) se calculó aplicando la siguiente fórmula 1^{31, 32,33} teniendo como referencia la medición del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y la medición del halo de los extractos ensayados.

$$PEIR = \frac{\bar{x} \phi \text{ Halo de inhibicion del extracto}}{\bar{x} \phi \text{ Halo de inhibicion del control positivo}} \times 100$$

Fórmula1.

Los datos fueron analizados y graficados con los programas: Statgraphics Centurion XVI y Excel, por el método de ANOVA (análisis de varianza) para hallar la diferencia significativa de los tratamientos . (Cuadro 2.2) y por la prueba de Tukey con 95 % de confianza para conocer que extracto fue mejor y en que concentración presentaron efecto inhibitorio. Los análisis están indicados en el Anexo 2.

Cuadro 2.2.- Tratamientos utilizados en la determinación del efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* L. “ajo”.

TRAT.	DESCRIPCIÓN
T ₁	Control positivo para <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922Cloranfenicol
T ₂	Control positivo para <i>Escherichia coli</i> ATCC25922Amikacina
T ₃	Control positivo para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923Penicilina
T ₄	Control positivo de inhibición para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923Vancomicina
T ₅	Extracto acuoso de ajo al 100%
T ₆	Extracto acuoso de ajo al 75%
T ₇	Extracto acuoso de ajo al 50%
T ₈	Extracto acuoso de ajo al 25%
T ₉	Extracto metanólico de ajo al 100%
T ₁₀	Extracto metanólico de ajo al 75%
T ₁₁	Extracto metanólico de ajo al 50%
T ₁₂	Extracto metanólico de ajo al 25%
T ₁₃	Extracto etanólico ajo al 100%
T ₁₄	Extracto etanólico de ajo al 75%
T ₁₅	Extracto etanólico de ajo al 50%
T ₁₆	Extracto etanólico de ajo al 25%
T ₁₇	Control negativo de inhibición (agua destilada)

III. RESULTADOS

3.1. ESTUDIO QUÍMICO DE EXTRACTOS *Allium Sativum* “ajo

La identificación cualitativa indicada en el Cuadro 3.1, se muestra que en los diferentes extractos del ajo se obtuvo reacciones negativas en el reconocimiento de flavonoides y taninos.

Los resultados que dieron positivo en los diferentes extractos de ajo fueron, en la Prueba de la espuma, indicando presencia de saponinas y mediante análisis de cromatografía en capa fina del extracto acuoso de *A. sativum*, se detectó presencia de aminoácidos azufrados como alicina y aliína.

Cuadro 3.1.- Identificación cualitativa de algunos compuestos químicos de los extractos de *A. sativum* “ajo”.

Componente químicos	Prueba realizada	Resultados		
		Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto etanólico
Flavonoides	Shinoda	-	-	-
Saponinas	Prueba de la espuma	++	+	+
Taninos	Solución de FeCl ₃ al 1%	-	-	-
Aminoácidos azufrados : alicina, aliína	cromatografía en capa fina	+		

(+)Indica presencia del metabolito secundario en el extracto

(-) Indica ausencia del metabolito secundario en el extracto

3.2. EFECTO ANTIMICROBIANO

Los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *A. sativum* en las concentraciones de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %, presentaron efecto antimicrobiano frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

3.2.1. Susceptibilidad antibacteriana de los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo”

En el cuadro 3.2, se presenta la codificación de susceptibilidad de acuerdo al diámetro del halo de inhibición, siguiendo los criterios dados del INS²⁷ adjunta en Anexos 3. Se muestra la susceptibilidad de las cepas control, frente a los diferentes tratamientos evaluados.

Cuadro 3.2.- Codificación de la susceptibilidad de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, frente a los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo”.

	TRAT	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Acu	T ₅	S	S
	T ₆	I	I
	T ₇	I	I
	T ₈	I	I
Eta	T ₉	S	I
	T ₁₀	I	S
	T ₁₁	I	I
	T ₁₂	I	I
Met	T ₁₃	S	S
	T ₁₄	I	I
	T ₁₅	I	I
	T ₁₆	I	I
Cont(-)	T ₁₇	-	-

Trat : Tratamiento

T₅ : Extracto acuoso de ajo al 100%

T₆ : Extracto acuoso de ajo al 75%

T₇ : Extracto acuoso de ajo al 50%

T₈ : Extracto acuoso de ajo al 25%

T₉ : Extracto etanólico de ajo al 100%

T₁₀ : Extracto etanólico de ajo al 75%

T₁₁ : Extracto etanólico de ajo al 50%

T₁₂ : Extracto etanólico de ajo al 25%

T₁₃ : Extracto metanólico ajo al 100%

T₁₄ : Extracto metanólico de ajo al 75%

T₁₅ : Extracto metanólico de ajo al 50%

T₁₆ : Extracto metanólico de ajo al 25%

T₁₇ : Agua destilada estéril

Cont(-) : Control negativo

Acu : Acuoso

Eta : Etanólico

Met : Metanólico

S= sensible I= Intermedio R= Resistente

(-) = No hay susceptibilidad

3.2.2. Promedio de halo de inhibición según la cepa control, *Escherichia coli* o *Staphylococcus aureus*

Los valores promedio obtenidos de los diámetros de los halos de inhibición, frente a las cepas control son mostrados en el cuadro 3.3. El mayor promedio para *Escherichia coli*, fue 27 mm (diámetro de halo de inhibición) producido por la concentración de 100 % del extracto acuoso de *A. sativum* “ajo”, mientras para *Staphylococcus aureus*, fue 44 mm (diámetro de halo de inhibición) ejercido por la concentración de 100 % del extracto metanólico de *A. sativum* “ajo”.

Cuadro 3.3.- Promedio de halos de inhibición (mm) según las cepas control sobre los tratamientos evaluados.

	TRAT	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Cont (+)	T ₁	26.33	
	T ₂	26.33	
	T ₃		36.33
	T ₄		21.0
Acu	T ₅	27.0	43.33
	T ₆	23.7	43.0
	T ₇	21	38.7
	T ₈	14.3	34.3
Eta	T ₉	26.0	35.3
	T ₁₀	21.0	35.7
	T ₁₁	19.0	28.0
	T ₁₂	11.0	23.0
Met	T ₁₃	25.0	44.0
	T ₁₄	22.3	43.0
	T ₁₅	19.7	38.7
	T ₁₆	10.0	33.7
Cont(-)	T ₁₇	0	0

Trat : Tratamiento
Cont (+) : Control positivo
Cont (-) : Control negativo

T₁ : Cloranfenicol para *E. coli*.
T₂ : Amikacina para *E. coli*.
T₃ : Penicilina para *S. aureus*.
T₄ : Vancomicina para *S. aureus*.
T₅ : Extracto acuoso de ajo al 100%
T₆ : Extracto acuoso de ajo al 75%
T₇ : Extracto acuoso de ajo al 50%
T₈ : Extracto acuoso de ajo al 25%
T₉ : Extracto etanólico de ajo al 100%
T₁₀ : Extracto etanólico de ajo al 75%
T₁₁ : Extracto etanólico de ajo al 50%
T₁₂ : Extracto etanólico de ajo al 25%
T₁₃ : Extracto metanólico ajo al 100%
T₁₄ : Extracto metanólico de ajo al 75%
T₁₅ : Extracto metanólico de ajo al 50%
T₁₆ : Extracto metanólico de ajo al 25%
T₁₇ : Agua destilada estéril
Acu : Acuoso
Eta : Etanólico
Met : Metanólico

3.2.3. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) según las cepas control

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó en las cepas control, usando la concentración de 100 % de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *A. sativum* "ajo".

La CMI fueron menores en el extracto acuoso; la CMI fue de 0.39 % v/v sobre *Staphylococcus aureus*, seguida de la CMI que fue 0.78 % v/v sobre *Escherichia coli*. Los resultados se presentan en el cuadro 3.4.

Cuadro 3.4.- CIM de los extractos de *Allium sativum* L "ajo" por dilución en tubo sobre las cepas control.

CEPA CONTROL	EXTRACTO	CIM % (v/v)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Acuoso	0.78
	Etanólico	1.56
	Metanólico	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Acuoso	0.39
	Etanólico	1.56
	Metanólico	0.78

3.2.4. Porcentaje del Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

El Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR), calculado mediante la fórmula 1, que relaciona los valores medidos de los diámetros de halos de inhibición, de los extractos ensayados con cada control positivo de acuerdo a la cepa control.

$$PEIR = \frac{\bar{x} \phi \text{ Halo de inhibicion del extracto}}{\bar{x} \phi \text{ Halo de inhibicion del control positivo}} \times 100$$

Formula 1.

En los cuadros 3.5 y 3.6, se indican los PEIR calculados; siendo el mayor para *Staphylococcus aureus* con PEIR de 210 % respecto a Vancomicina (V) seguido del PEIR 121 % respecto a Penicilina (P) producido de la concentración de 100% del extracto metanólico de *A. sativum*, mientras que, *Escherichia coli* con PEIR de 102.5 % respecto a Cloranfenicol (C) y Amikacina (MK) obtenidos por la concentración de 100% del extracto acuoso de *A. sativum*.

Cuadro3.5. Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *Allium sativum* "ajo" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Cont. (+)	Extracto acuoso				Extracto etanólico				Extracto metanólico			
	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%
P	119.2	118	107	94.4	97.2	98.3	17.1	63.3	121	118	107	92.8
VA	206.1	205	184	163	168	170	133	109.5	210	205	184	160

Cont (+): control positivo, P: Penicilina, VA: Vancomicina

Cuadro 3.6.- Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos acuoso, etanólico y metanólico de *Allium sativum* "ajo" sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Cont. (+)	Extracto acuoso				Extracto etanólico				Extracto metanólico			
	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%
C	102.5	90	79.7	54.3	101	79.7	72.1	41.7	94.9	84.6	74.87	37.
MK	102.5	90	79.7	54.3	101	79.7	72.1	41.7	94.9	84.6	74.87	37.

Cont (+): control positivo, C: Cloranfenicol, MK: Amikacina

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis de varianza y pruebas de Tukey (ver en Anexos 2).

3.3.1. Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de *Allium sativum* frente a *Escherichia coli*

En las Figuras 3.1 y 3.2., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA los valores de $p < 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza, tienen efecto estadísticamente significativo sobre el Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR). Se observó que la media del efecto ejercido por el extracto acuoso de *A. sativum*, difieren significativamente de las medias de los otros extractos, mostrando que *E. coli*, es más sensible al extracto Acuoso seguidos de los extractos etanólico y metanólico de *A. sativum*.

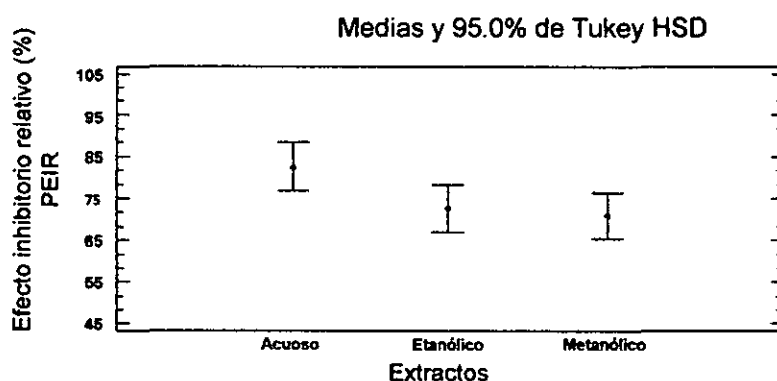


Figura 3.1.- PEIR de extractos de *A. sativum* respecto al control (C) sobre *E. coli*.

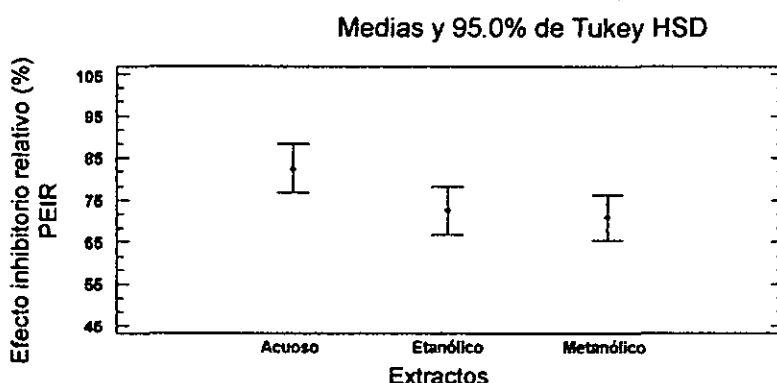


Figura 3.2.-PEIR de extractos de *A. sativum* respecto al control (MK) sobre *E. coli*.

3.3.2. Análisis del Efecto antimicrobiano entre los tratamientos y controles positivos frente a *Escherichia coli*

En la Figura 3.3., refleja el comportamiento de los tratamientos ensayados frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, que fue susceptible desde las concentraciones de 25 % y aumentó hasta las concentraciones de 100 % de los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo”. Se observó que la concentración de 100% del extracto acuoso y etanólico de *A. sativum* mostraron, que poseen efecto antimicrobiano similar a los controles positivos.

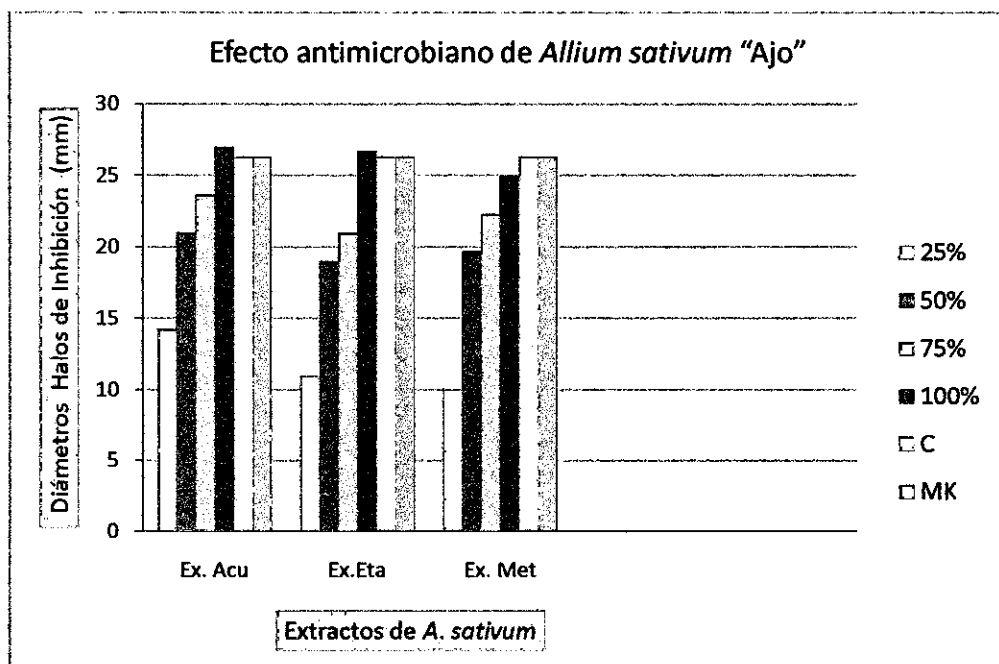


Figura 3.3.-Sensibilidad de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a tratamientos evaluados.

3.3.3. Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de *Allium sativum* frente a *Staphylococcus aureus*

En las Figuras 3.4 y 3.5., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA los valores de $p < 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza, tienen efecto estadísticamente significativo sobre el Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR). Indica que las medias del efecto antimicrobiano de las diferentes concentraciones del extracto metanólico y acuoso y de *A. sativum*, difieren significativamente de la media del efecto producido por el extracto etanólico. Se observó que, *S. aureus* es mas sensible a los extractos acuoso y metanólico de *A. sativum*. “ajo”.

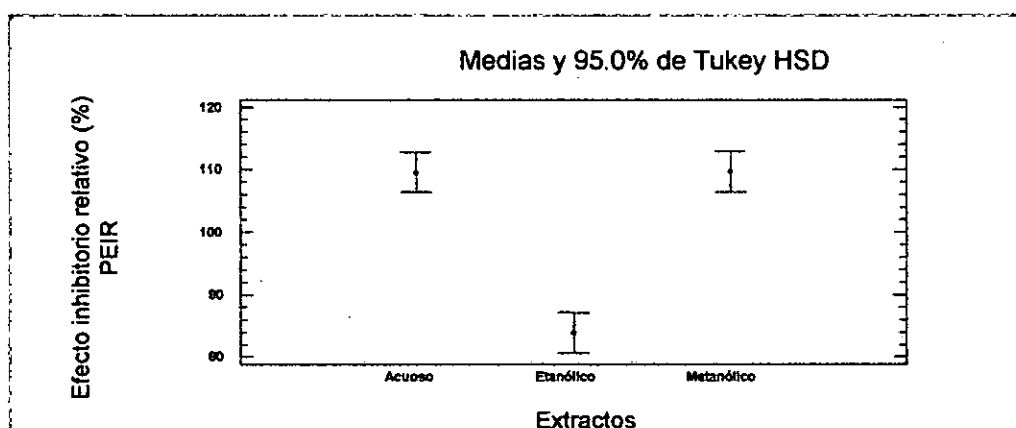


Figura 3.4.- PEIR de extractos de *A. sativum* respecto al control (P) sobre *S. aureus*.

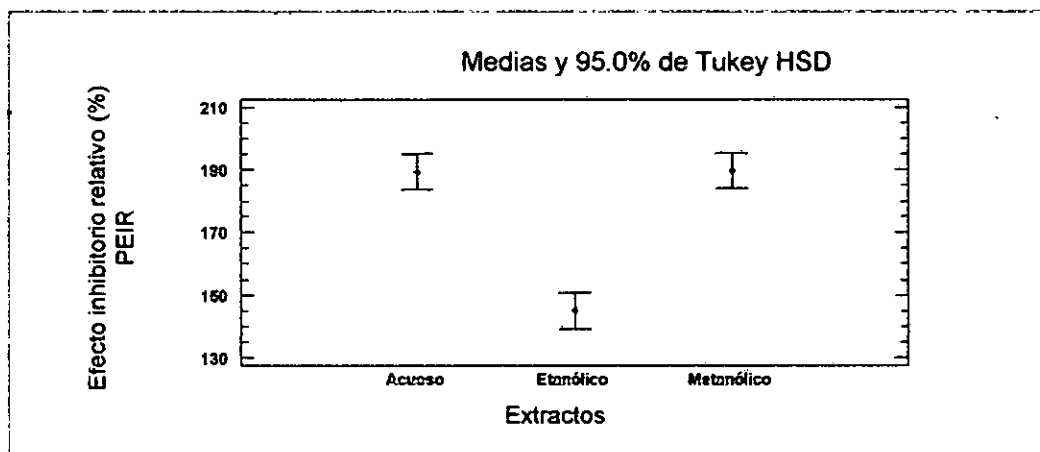


Figura 3.5.- PEIR de los extractos de *A. sativum* respecto al control (VA) sobre *S. aureus*.

3.3.4. Análisis del Efecto antimicrobiano entre los tratamientos y controles positivos frente a *Staphylococcus aureus*

La Figura 3.6., muestra el comportamiento de los tratamientos ensayados frente a *Staphylococcus aureus*, que fue susceptible desde la concentración de 25 % aumentando hasta la concentración de 100 % de los diferentes extractos de *A. sativum*. Se observó que las concentraciones de 100 % y 75 % del extracto acuoso y metanólico de *A. sativum* superaron el efecto antimicrobiano de sus controles positivos.

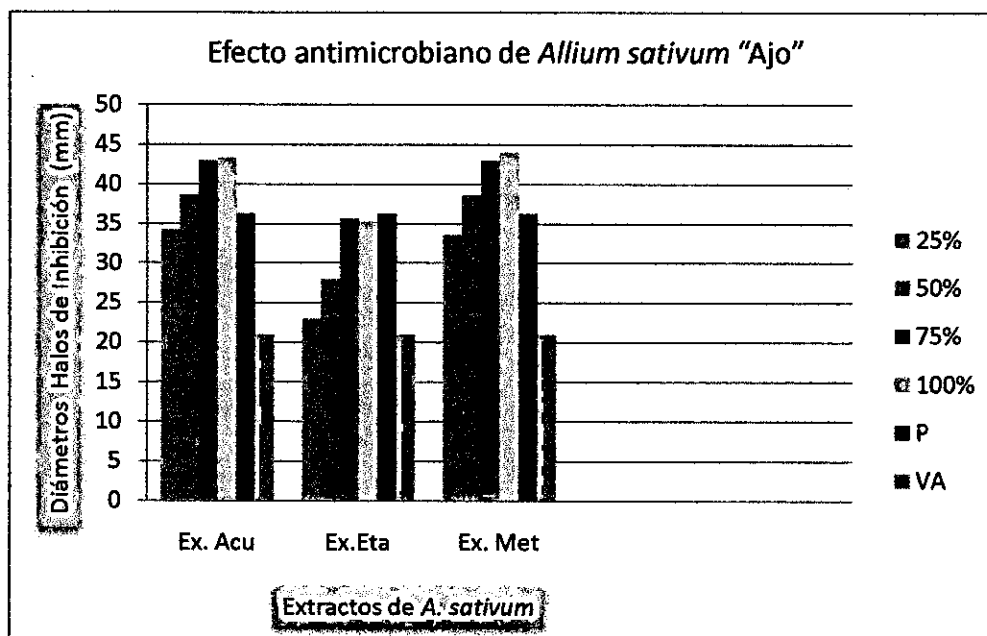


Figura 3.6.- Sensibilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a los tratamientos evaluados de extractos de *A. sativum* "Ajo".

IV. DISCUSIÓN

Las propiedades antimicrobianas de las plantas, han sido reconocidas desde hace tiempo, son utilizadas como conservantes de alimentos y en la medicina tradicional³, para tratar diversas enfermedades en forma empírica y basada en la tradición, que en la actualidad, estos usos se fundamentan en ensayos farmacológicos in vivo como in vitro, así como en ensayos químicos. La importancia de estas plantas radica en su composición fitoquímica y las implicaciones farmacológicas o medicinales de sus metabolitos secundarios, pero también, de su ecología adaptativa. Díaz et al³⁵

Diversas investigaciones han puesto su atención sobre una serie de especies vegetales cuyos olores característicos o sabores desagradables las dotan de propiedades etnomedicinales. De acuerdo a su composición química se le atribuyen efectos biológicos benéficos para los humanos. Córdova¹². En algunas especies la composición química responsables del sabor pueden variar, según la época del año, relación con sus fitófagos predadores y la concentración de tales compuestos por cierta variabilidad geográfica. López & Pérez³⁴. Dentro de la familia Liliaceae, la especie *Allium sativum* “ajo” es más emblemática de todas con fuerte olor, que es un mecanismo vegetal para mostrar su toxicidad, mediante una composición fitoquímica.

Las pruebas cualitativas en los extractos de *A. sativum* “ajo” indicaron, que presentan saponinas, siendo mayor en el extracto acuoso, que los extractos etanólico y metanólico de *A. sativum* “ajo”, resultado que está en concordancia con Díaz et al³⁵ 2005, que cuantificaron las saponinas presentes en extractos ajo fresco, ensayando diferentes proporciones de agua/etanol y agua/metanol, obteniendo mayor formación de espuma, cuando la proporción de la mezcla contiene más agua que solvente orgánico, siendo el agua el mejor solvente. Así mismo, la presencia de aminoácidos sulfurados como aliína y alicina en el extracto puro de ajo, mediante análisis de cromatografía en capa

fina, reconocidos por la reacción de la Ninhidrina de coloración naranja (aliína), azul violeta (alicina), comparado con los factores de retención (Rf) de las soluciones patrones, como lo descrito por Martínez et al¹⁶ en 2008, que realizaron el reconocimiento de estos aminoácidos sulfurados por métodos de cromatografía en capa fina, obteniendo las sustancias alicina y aliína con las coloraciones descritas.

En cambio, la prueba de Shinoda para detección de flavonoides y taninos fueron negativas o sus niveles no fueron detectables, por lo que se deben realizar otros ensayos, para confirmar la ausencia o presencia de estos compuestos; ya que, es reportado como parte de los componentes del ajo, en López & Pérez³⁴ menciona, desde el punto de vista fitoquímico abundan compuestos azufrados del tipo organosulfurados, saponinas esteroideas, también cuentan con flavonoides y otros compuestos azufrados derivados de la cisteína. Los flavonoides son estructuras fenólicas, sintetizadas en la planta en respuesta a la infección antimicrobiana. Se considera que la acción de los fenoles y polifenoles contra los microorganismos se debe a la inhibición enzimática posiblemente por acción sobre los grupos sulfhídricos de sus aminoácidos de cisteína o por medio de reacciones más inespecíficas con proteínas bacterianas. Araujo Díaz³⁶; por lo tanto es probable que contribuyan a las propiedades antimicrobianas de los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo”

En las comparaciones múltiples de Tukey, se encontraron que difieren significativamente, las medias del diámetro de halos de inhibición de las concentraciones de 100 % seguidos de 75 % y 50 % de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *A. sativum*, lo cual indica que a mayor concentración del extracto mayor será el efecto antimicrobiano. Lo cual coincide con lo publicado por Mercado y Arévalo²⁶ 2013, observaron una mayor acción antibacteriana de la concentración 100% del extracto de *Allium sativum*, sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa*. Así mismo Goytia³⁹ 2008, indicó que el aceite esencial de *A. sativum* por extracción orgánica (alcohol 70 %) en concentración

de 100 %, mostró eficiencia en la actividad inhibitoria sobre *E. coli*. Además, Munayco²³ 2011, señala el extracto hidroalcohólico de *A. sativum* presentó efecto antimicrobiano frente a bacterias estándares de cavidad oral, tales como, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Capnocytophaga sputigena* y *Candida albicans*.

De la misma manera, se encontraron diferencias significativas entre las medias de las concentraciones ensayadas de los diferentes extractos de *A. sativum*, con respecto al control positivo (Vancomicina) sobre *S. aureus*, de ahí que, los extractos de *A. sativum* superaron el efecto antimicrobiano del control positivo; concordando con lo manifestado por Mercado y Arévalo²⁶ 2013, quienes compararon las diferentes concentraciones del 25 %, 50 % y 100 % de extracto de *A. sativum*, sobre *S. aureus* y *S. epidermidis*, determinando que difieren significativamente de los halos formados por los discos controles (Cefalexina y Vancomicina respectivamente).

No se encontraron diferencias significativas en las medias del diámetro de halos de inhibición de las concentraciones de 100 % de los diferentes extractos de *A. sativum*, respecto a los controles positivos (Cloranfenicol y Amikacina) sobre *Escherichia coli*; de la misma manera, no se encontró diferencia significativa en las medias del diámetro de halos de inhibición entre las concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % del extracto metanólico de *A. sativum*, respecto al control positivo (Penicilina) sobre *Staphylococcus aureus*. Lo cual indica, el extracto acuoso y el extracto metanólico de *A. sativum*, presentaron similar efecto antimicrobiano de los controles positivos respecto a *E. coli* o *S. aureus*; coincidiendo con lo mencionado por Goytia³⁹ en 2008, determinó que *Allium sativum*, obtenidos por extracción alcohólica, mostró inhibición sobre *E. coli*, presentaron igual comportamiento con los antibioticos ensayados (Eritromicina, Vetericyn y Amoxicilina).

El efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *A. sativum*, se obtuvo, calculando el porcentajes del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los

extractos acuoso, etanólico y metanólico de *A. sativum*. Obteniendo los mayores valores con PEIR de 210 % y 206.1 % en los extractos metanólico y acuoso de *A. sativum*, respectivamente ambos valores cercanos, frente a *S. aureus* y PEIR de 102 % del extracto acuoso *A. sativum* frente a *E. coli*. Estas diferencias del efecto antimicrobiano en los extractos de *A. sativum*, pueden explicarse debido a que los compuestos activos del ajo se transforman según sean las condiciones de temperatura, pH y el método empleado en la extracción (solventes) Córdova¹². Cabe señalar, que no se recuperaron los solventes usados en los extractos etanólico y metanólico, por la inestabilidad de los compuestos sulfurados tiosulfinatos responsables de la actividad antibacteriana del ajo, tal como refiere Cruz³⁷, los puntos de ebullición de varios tiosulfinatos van desde 20 °a 30 °C y el punto de ebullición de la alicina no se puede obtener pues se decompone al calentarla en ácido alil sulfénico y tioacroleína. Así mismo Sharapin³⁸, 2000 indica, las sustancias extraíbles es facilitada por el aumento de temperatura; sin embargo, muchos principios activos son termolábiles y pueden ser destruidos, total o parcialmente a temperaturas elevadas, lo que puede causar pérdida de sustancias volátiles, como los tiosulfinatos compuestos muy reactivos, la alicina representa el 70- 80% del total de tiosulfinatos formados cuando el ajo es triturado.

Sharapin³⁸ 2000, menciona que al seleccionar un solvente se debe considerar la facilidad de manipulación, el precio, la seguridad y el grado de toxicidad, en el supuesto que parte del solvente permanezca en el producto acabado, el solvente debe ser aprobado por el órgano nacional responsable del registro del producto Fitoterapéutico. Por esta razón, los productos fitoterapéuticos deben ser elaborados, principalmente, con mezclas hidro-alcohólicas.

Aunque parte de los solventes utilizados en las maceraciones permanecieron en los extractos etanólico y metanólico de *A. sativum*, parecen no haber afectado la actividad antimicrobiana, ya que la proporción de dichos solventes, respecto al extracto puro, fueron menores además de una posible volatilización durante la manipulación en los filtrados con gasas estériles, lo cual

se pudo observar en los valores cercanos, obtenidos de los diámetros de halos de inhibición del extracto etanólico y metanólico respecto a los obtenidos por el extracto acuoso.

En cuanto a los ensayos de la concentración mínima inhibitoria (CIM), que inhiben el crecimiento visible de las cepas control, fueron menores en el extracto acuoso; la CMI fue de 0.39 % v/v sobre *Staphylococcus aureus*, seguida de la CMI que fue 0.78 % v/v sobre *Escherichia coli*, estos resultados difieren a los encontrados en la literatura ya que en el 2008, Hernandez²⁰, reportó que el extracto etanólico de ajo presentó una CMI de 0.25 g ajo/ml etanol, indicando que el extracto de ajo funciona como agente bacteriostático y en estudio de Sánchez Aguilar⁴⁰ 2013, indicó que mediante diluciones seriadas en micro placas, determinó que se requieren cantidades de por lo menos 12.5 mg/ml de extracto ajo para inhibir el crecimiento *E. coli* y en niveles de 10% pueden ser usados como desinfectante natural para la inhibición *E. coli*.

La cepa control *Staphylococcus aureus*, presentó mayor sensibilidad a los diferentes extractos de *A. sativum*, debido a que el promedio de los halos de inhibición es mayor al promedio obtenido en *Escherichia coli*; resultados que coinciden con lo mencionado por otros autores, como Mercado y Arévalo²⁶ 2013, que evaluaron la sensibilidad de los cultivos *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa*, frente a la acción antibacteriana del extracto de *A. sativum* “ajo”, determinaron que los cultivos de *S. aureus* y *S. epidermidis* presentaron mayor sensibilidad formando halos de inhibición de mayores diámetros en comparación con *Pseudomona aeruginosa*. Esta diferencia, en la actividad antimicrobiana se debería a que las bacterias gram negativas y gram positivas cada una de ellas posee una sensibilidad diferente a los extractos de ajo y se podría explicar por las distintas estructuras y constituyentes químicos que componen la envoltura celular de estas bacterias. Como mencionan Alvarado y Rodas⁵ 2009, posiblemente se deba a la composición de la pared celular, pues los microorganismos gram negativos poseen una envoltura celular mas compleja, presenta una membrana externa que constituye una barrera impermeable a moléculas de gran tamaño y moléculas hidrófilas

ofreciendo protección frente a condiciones adversas, además de una delgada capa de peptidoglucano; por el contrario, los gram positivos poseen una gruesa capa de peptidoglucano, pero carecen de membrana externa, por esto son menos complejos que los gramnegativos. Así mismo Córdova¹² 2010, menciona la susceptibilidad frente al ajo puede depender de diferencias estructurales de las cepas control. Los polisacáridos y lípidos contenidos en la pared celular tienen efecto sobre la permeabilidad de la alicina y otros constituyentes del ajo, que puede ser responsable de la diferencia en la susceptibilidad al ajo entre las bacterias gram positivas y gram negativas.

Si bien, al comparar el estudio realizado, con los de otros autores mencionados anteriormente, las técnicas, el método de obtención del extracto del ajo y las concentraciones usadas son diferentes a la utilizada en este trabajo, pero se resalta la acción inhibitoria de los extractos de ajo sobre *E. coli* y *S. aureus*, coincidiendo con los resultados obtenidos. En cuanto, a la mayor sensibilidad, se observó en mayor medida en las bacterias Gram positiva, que en las Gram negativa, corroborado por reportes anteriores de sensibilidad del extracto de *A. sativum*, sobre cepas bacterianas. De acuerdo a lo obtenido, se puede confirmar lo que otros autores han mencionado, acerca del efecto antimicrobiano de *A. sativum* “ajo”, ya que presenta compuestos de carácter inhibitorio para ciertos microorganismos, lo que sugiere que la especie *A. sativum* “ajo” tiene potencial antimicrobiano y la presencia de algunos metabolitos secundarios puede ser la responsable de este efecto.

Según Soto⁴¹ 2007, de los compuestos presentes en el bulbo de ajo, destacan los organoazufrados como ningún otro vegetal responsable del olor y sabor, siendo en su mayoría biológicamente activos. La aliína (sulfóxido de S- alil-cisteína) es el compuesto sulfurado más abundante en el ajo fresco y cuando las células se rompen (cortan o trituran), la aliína interacciona con la enzima aliinasa y se convierte en alicina, compuesto altamente inestable y de reacción oxidante, se transforma fácilmente en otros compuestos azufrados tales como sulfuro, disulfuro y trisulfuro dialílico (Córdova¹² 2010), pero si en

el proceso de extracción, se emplean solventes polares permite la estabilización de la mayoría de ellos incluyendo la alicina.

Algunos autores coinciden sobre el mecanismo de acción, de los compuestos activos de los extractos de *Allium sativum*. Goytia³⁹ 2008, atribuye que presenta efecto bactericida que se debe a su propiedad liposoluble. Así mismo Ardilla et al²², 2009 en Mercado y Arévalo²⁶ 2013, refieren que dichos componentes poseen acción lipofílica, estas moléculas tienen la capacidad de atravesar la pared y membrana celular bacteriana y romper estas estructuras polisacáridos, ácidos grasos y lípidos, provocando su permeabilización, la cual produce pérdida de iones, colapso de la bomba de protones y disminución del ATP, conduciendo a la muerte celular.

Si bien se confirmó la presencia de la alicina en el extracto puro de *Allium sativum*, sería uno de los componentes responsables del efecto inhibitorio en el crecimiento in vitro de *S. aureus* y *E. coli*. Cruz³⁷ 2008, indica que por la inestabilidad de la alicina reaccionan con los tioles, los tiosulfatos reaccionan para formar disulfuros. Particularmente interesante es la reacción de la alicina con cisteína, esta unión con los grupos sulfhídrico es probablemente la explicación de ciertas propiedades medicinales de la alicina. Por lo que las enzimas que contengan grupos sulfhídrico como centro activo podrían bloquearse mediante esta reacción.

Coincidiendo con lo que mencionan Munayco²³ 2011, que el principal efecto antimicrobiano de la alicina, se debe a su reacción química con los grupos tiol de las enzimas diferentes, por ejemplo, alcohol deshidrogenasa, la tiorredoxina reductasa, y la ARN polimerasa, que puede afectar el metabolismo esencial de la actividad proteínica de la cisteína. Por otro lado, Kim et al⁴², 2004 en Sánchez García³ 2012, indica que la alicina compuesto aislado del ajo, afecta el metabolismo microbiano inactivando las proteínas que presentan grupos -SH, oxidando los grupos "tiols" y transformándolos a enlaces disulfuros (S-S). Existiendo una inhibición competitiva con los grupos sulfhídricos de la cisteína y del glutatión.

V. CONCLUSIONES

- ❖ Los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *A. sativum* en las concentraciones de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %, presentaron efecto antimicrobiano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- ❖ Los extractos metanólico y acuoso presentaron mayor efecto antimicrobiano sobre *S. aureus*, con PEIR de 210 % y 206 % respectivamente.
- ❖ El extracto acuoso presentó mayor efecto antimicrobiano sobre *E. coli*, con 102 % de PEIR.
- ❖ La Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) que se requirió para inhibir el crecimiento de *S. aureus* fue de 0.39 % v/v del extracto acuoso de *A. sativum*, mientras para *E. coli* fue de 0.78 % v/v del extracto acuoso de *A. sativum*.
- ❖ Se determinó que *S. aureus*, es más sensible que *E. coli*, frente a la acción antibacteriana de los diferentes extractos de *A. sativum*.
- ❖ La concentración de 100% del extracto acuoso al de *A. sativum*, presentaron igual efecto antimicrobiano del Cloranfenicol y Amikacina sobre *E. coli*.
- ❖ La concentración de 100% del extracto acuoso de *A. sativum* superaron el efecto antimicrobiano de Vancomicina sobre *S. aureus*.

VI. RECOMENDACIONES

- ❖ Analizar si los extractos obtenidos, poseen los mismos efectos antimicrobianos en periodos de tiempo mayores al utilizado en esta investigación.
- ❖ Promover el estudio de otros vegetales de los cuales se conozcan popularmente que poseen algunas propiedades antimicrobianas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aronés Castro P, Pariona Palomino A. Manual Producción de plantas aromáticas y medicinales. [En línea]. Ayacucho; 2007 [citado 2014 Marzo 20]. Disponible en : <http://www.bvcooperacion.pe/b300/1/BVCI0000614.pdf> biblioteca/bitstream/123456789/.
2. Cortés Cabrera J. Actividad biológica de extractos de plantas para el tratamiento del cancer e infecciones en Tepatepec, Tesis de licenciatura. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Departamento de Biología; 2005.
3. Sánchez García E. Efecto de compuestos fitoquímicos sobre microorganismos de importancia en alimentos. Tesis doctoral. Nuevo México: Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Ciencias Biológicas; 2012.
4. Corzo Barragán D. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Rev Mex Cienc Farm. 2012; 43(3).
5. Alvarado Alvarado MF, Rodas Mancheno GM. Influencia de la altitud sobre la actividad antibacteriana de extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo. Licenciatura. Cuenca: Universidad de Cuenca , Departamento de Ciencias Químicas ; 2009.
6. Fernández Riverón F, López Hernández J, Ponce Martínez L, Machado Betarte C. Resistencia bacteriana. Rev Cubana Med Milit. 2002; 32(1): p. 44-8.

7. Pesantez Aguilar GE. Estudio del proceso del control de crecimiento de *Escherichia coli* mediante el uso de pasta de ajo (*Allium sativum* L.) en chorizo crudo. [Tesis de grado]. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial, Ingeniería de alimentos ; 2010.
8. Florencia Greco M. Estudio de proceso de deshidratación industrial de ajo con la finalidad de preservar alicina como principio bioactivo. [Tesis de grado]. Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo, Ciencias Agrarias; 2011.
9. Bender Bojalil D, Bárcenas pozos M. El ajo y sus aplicaciones en la conservacion de alimentos. temas selectos de Ingeneria de Alimentos. 2013; 7(1): p. 25-36.
10. Cameroni G. Cadena del Ajo. [En linea]; 2011 [citado 2013 Octubre 02. Disponible en : http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/otros/horticola/informes/2012_12Dic_ficha_de_ajo.pdf
11. López Luengo TM. El ajo : Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. O f f a r m. [Internet] 2007[accesado 23 Jul 2013]; 26(1).p.79-81. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13097334&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=4&ty=102&accion=L&origen=zonadelectura&web=http://zl.elsevier.es&lan=es&fichero=4v26n01a13097334pdf001.pdf
12. Córdova Betancourt M. Extracción y purificación de alicina a partir de ajo (*Allium sativum*): Implicaciones analíticas. [Tesis Maestro en Ciencias]. Oaxaca: Instituto Politécnico Nacional, Ingeniería de procesos; 2010.

13. Navarro C. Posibilidades terapéuticas del bulbo de ajo (*Allium sativum*). Rev fit . [Internet] 2007[accesado 30 Jul 2013]; 7(2).p.141-151. Disponible en: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF7-2%20all.pdf>
14. Arteche A, Vanaclocha B, GÜenechea J. Fitoterapia : Plantas medicinales. Vademécum. 1998;(3).
15. Espinoza F, Ríos E, Elías C. Determiación de fenoles totales, fructanos y pungencia en seis cultivares de ajo (*Allium sativum*) en el Perú. RevSocQuím Perú. [Internet] 2010 [accesado 4 Jul 2013]; 76(1).p.101-107. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2010000100011&script=sci_arttext
16. Martínez A, Valencia AG, Jiménez N, Mesa M, Galeano E. Manual de practicas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica. 2008.p.21-23. Disponible en:
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/manual2008.pdf>
17. Fuselli SR, Filsinger B, Fritz R, Yeannes MI. Estudio microbiológico de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) deshidratados. Revista Argentina de Microbiología. [Internet] 2004[accesado 30 Jun 2013];(36).p.139-144. Disponible en:http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032575412004000300009&script=sci_arttext
18. Maidment DC, Dembny Z, Harding C. A Study into the antibiotic effect of garlic *Allium Sativum* on Escherichia coli and Staphilococcus albus. Nut & Foo Scie 1999; (4).

19. Albes Demoura K. Efeito do extrato aquoso de alho sobre a qualidade microbiológica de frangos resfriados. [Tesis Magister Scientiae]. Brasil: Universidade Federal de Viçosa, Ciência e Tecnologia de Alimentos; 2002.
20. Hernandez Padilla L. Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo para *E. coli* y *L.innocua*. [Tesis Licenciatura]. Mexico: Universidad de las Americas de Puebla , Deparatmento de Ingeniería Química y de alimentos; 2003.
21. García Rico RO, Herrera Arias FC. Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar in vitro. Bistua. [Internet] 2007[accesado 23 Jun 2013]; 5(2).p.181-191. Disponible en:

http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home_10/recursos/general/pag_contenido/publicaciones/bistua_revista_ciencias_basica/2007/12082010/rev_bistua_vol5_num2_art7.pdf
22. Ardila M, Vargas A, Pérez J, Mejía L. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* Y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. Biosalud. [Internet] 2009[accesado 8 Jun 2013]; 8.p.47-57 . Disponible en:
http://vector.ucaldas.edu.co/downloads/Vector4_11.pdf
23. Munayco Pantoja Ed. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estandares de la cavidad bucal. [Tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Odontología; 2011.

24. Cahuas Lora C, Luján Velázquez M, Robles Castillo H, Saravia Cueva V, Cabeza Rodriguez J. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de *Allium sativum* "ajo" frente a dermatofitos y *Candida albicans*. UCV - Scientia. [Internet] 2010 accesado 8 Jun 2013]; 2(2). Disponible en: http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077172X2010000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
25. Wagner H. Futuro en la investigación en fitoterapia: tendencias y retos. Rev de fit. [Internet] 2006[accesado 4 Jul 2013].; 6(2).p.101-115. Disponible en: http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF_6-2_wagner.pdf
26. Mercado Martinez P, Arévalo Campos L. Sensibilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* "Ajo". REBIOL. 2013; 33(1).
27. Instituto Nacional de Salud (INS). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión Ministerio de Salud del Perú; 2002. (Serie de Normas Técnicas ; 30).p.58-66 . Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf
28. Castillo M, Castillo J, Rodríguez M, Wong A. Diseños experimentales en investigación científica. InnDeNeg. 2007; 4(2).
29. Mori del Aguila T, Ruiz E, Bardales J, García M, Tresiera Á, Arévalo L, et al. Efecto antimicrobiano de *Myrciariadubia* "camucamu " y *Cyperushuluzulae*"piripiri "sobre microorganismos patógenos. Quito: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Dpto de Microbiología; 2010.
30. Merck. Medios de cultivo.

31. De Paula J, Martins A. Acción antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de *Rubusurticaefolius*. Rev Cubana Plant Med. [Internet] 2000[accesado 8 Jun 2013]; 5(1). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962000000100007

32. Chu R. Actividad antimicrobiana "in vitro "de extractos de plantas medicinales. Tesis para optar el titulo Profesional de Biólogo. Piura: Universidad Nacional de Piura, Departamento de Biología; 2003.

33. Mogollón MV. Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Vallesia glabra*(link) "cun cun " sobre *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas seruginosa* y *Streptococcus pyogenes*. Tesis para optar el titulo Profesional de Biólogo. Piura: Universidad Nacional de piura, Departatmento de Biología; 2008.

34. López Sáez JA, Pérez Soto J. Fitoquímica y valor ecológico del olor a ajo en los vegetales. Medicina Naturista. 2010; 4(1).

35. Díaz Jimenez L, Ibarra Arellano K, Jiménez López K. Cuantificación de saponinas en ajo genéticamente seleccionado. [Online].; 2005 [cited 2014 Setiembre 10. Available from: [HYPERLINK congresos.cio.mx/3_enc_mujer/files/extensos/S4-BCA05](http://congresos.cio.mx/3_enc_mujer/files/extensos/S4-BCA05).

36. Araujo Díaz J, Salas Asencios R. Actividad antimicrobiana de plantas. Revista Científica de la Universidad Científica del Sur. [Internet] 2008[accesado 10 Nov 2014] Disponible en:
[.file:///F:/A%20revisar%20esto/ACTIVIDAD%20ANTIMICROBIANA%20DE%20PLANTAS%20\(Sci\)%20%20%20Ap%C3%ADcola%20del%20Alba%20%20%20flavonoides.htmjorje](http://file:///F:/A%20revisar%20esto/ACTIVIDAD%20ANTIMICROBIANA%20DE%20PLANTAS%20(Sci)%20%20%20Ap%C3%ADcola%20del%20Alba%20%20%20flavonoides.htmjorje)

37. Cruz Villalón, G. Efecto de la alicina Sobre el crecimiento y produccion de biocapas en *Staphylococcus epidermidis*. Tesis Doctoral [Internet] 2008[accesado 5 Jun 2014] Disponible en: <http://perso.wanadoo.es/gcvq/Thesis%20index.htm>
38. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos Bello CA, editor. Colombia; 2000.
39. Goytia Acevedo MF. Estudio in vitro de la resistencia e inhibición de nueve especies de microorganismos con *Cymbopogon citratus*(Limonaria)y *Allium sativum*(ajo). Tesis de Licenciatura. Jalisco: Universidad de Guadalajara, Departamento de Biología ; 2008.
40. Sánchez Aguilar MA. Efecto inhibitorio de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. Tesis de Licenciatura. Xalapa : Universidad Veracruzana, Departamento de medicina Veterinaria y Zootecnia; 2013.
41. Soto Vargas V, Camargo A, González R, Galmarini C. Síntesis y purificación de ajoeno y su cuantificación en aceites comerciales de ajo. Fca UnCu. [Internet] 2007[accesado 5 Jun 2013];(1).p.97-100. Disponible en:
http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/1543/sotoagrarias39-1.pdf
42. Kim JW, Kim YS, Kyung KH. La actividad inhibidora de los aceites esenciales de ajo y cebolla contra las bacterias y levaduras. Journal of Food Protection. 2004; 67 (3): 499-504.
43. Madigan M, Martinko J, Parker J. Brock Biología de los microorganismos. Décima edición ed. Hall PP, editor. Madrid.

VIII. ANEXOS

ANEXOS 1.- cuadros de pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Cuadro 7.1.-Halos de inhibición en mm de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *A. sativum* L. "ajo" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 por difusión en agar.

REP.	ACUOSO (20 ul/disco)				ETANÓLICO (20 ul/disco)				METANÓLICO (20 ul /disco)				Control		
													(+)		(-)
	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	C 30 ug	MK 30ug	A.d
I	29	22	22	15	26	19	16	10	28	22	20	10	26	27	0
II	25	24	21	14	28	19	17	13	25	23	18	10	27	26	0
III	27	25	20	14	24	25	24	10	22	22	21	10	26	26	0
SUMA	81	71	63	43	78	63	57	33	75	67	59	30	79	79	0
PROMEDIO	27.0	23.7	21	14.3	26.0	21.0	19.0	11.0	25.0	22.3	19.7	10.0	26.33	26.33	0

Positivo: (+); Negativo: (-)

C: Cloranfenicol, MK: Amikacina, P: Penicilina, VA: Vancomicina; A. d: agua destilada estéril

Cuadro 7.2.- Halos de inhibición en mm de los extractos acuoso, etanólico y Metanólico de *A. sativum* L. "ajo" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 por difusión en agar.

REP.	ACUOSO (20 ul/disco)				ETANÓLICO (20 ul /disco)				METANÓLICO (20 ul /disco)				Patrón		
	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	(+)	(-)	
													P 10ug	VA 30ug	A.d
I	41	46	44	37	33	34	26	20	40	39	29	24	36	21	0
II	43	37	38	34	37	38	29	25	47	47	48	40	37	21	0
III	46	46	34	32	36	35	29	24	45	43	39	37	36	21	0
SUMA	130	129	116	103	106	107	84	69	132	129	116	101	109	63	0
PROMEDIO	43.33	43.0	38.7	34.3	35.3	35.7	28.0	23.0	44.0	43.0	38.7	33.7	36.33	21	0

Positivo: (+); Negativo: (-)

C: Cloranfenicol, MK: Amikacina, P: Penicilina, VA: Vancomicina; A.d: agua destilada estéril

ANEXOS 2.-Pruebas estadísticas

Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo” con respecto al control positivo (Cloranfenicol) sobre crecimiento in vitro de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No existe una diferencia estadísticamente significativa en el Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

Cuadro 7.3.- Análisis de varianza del porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Extracto	183.389	2	91.6944	6.96	0.0273
B:Concentración (20 ul/disco)	4834.68	3	1611.56	122.28	0.0000
RESIDUOS	79.0785	6	13.1797		
TOTAL (CORREGIDO)	5097.14	11			

Dado que los dos valores de P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (%) con un 95.0% de nivel de confianza por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa.

Cuadro 7.4.- Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Extracto	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Metanólico	4	73.0675	1.8152	X
Etanólico	4	73.625	1.8152	X
Acuoso	4	81.625	1.8152	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Acuoso - Etanólico	*	8.0	7.87655
Acuoso - Metanólico	*	8.5575	7.87655
Etanólico - Metanólico		0.5575	7.87655

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que la media del extracto acuoso es significativamente diferente que la media de los otros extractos con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

Se observa diferencias estadísticamente significativas entre el extracto acuoso con respecto a los extractos etanólico y metanólico. El extracto acuoso de *Allium sativum* L. "ajo" fue el mejor tratamiento con efecto antimicrobiano, seguido de los extractos etanólico y metanólico.

Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo” con respecto al control positivo (Amikacina) sobre crecimiento in vitro de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No existe una diferencia estadísticamente significativa en el Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa en el Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

Cuadro 7.5.-Análisis de varianza del porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Extracto	183.389	2	91.6944	6.96	0.0273
B:Concentración (20 ul/disco)	4834.68	3	1611.56	122.28	0.0000
RESIDUOS	79.0785	6	13.1797		
TOTAL (CORREGIDO)	5097.14	11			

Dado que los dos valores de P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje del efecto inhibitorio relativo (%) con un 95.0% de nivel de confianza por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa.

Cuadro 7.6.- Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Extracto	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Metanólico	4	73.0675	1.8152	X
Etanólico	4	73.625	1.8152	X
Acuoso	4	81.625	1.8152	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Acuoso - Etanólico	*	8.0	7.87655
Acuoso - Metanólico	*	8.5575	7.87655
Etanólico - Metanólico		0.5575	7.87655

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que la media del extracto acuoso de es significativamente diferente que la media de los otros extractos con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

Se observa diferencias estadísticamente significativas entre el extracto acuoso con respecto a los extractos etanólico y metanólico. El extracto acuoso de *Allium sativum* L. “ajo”, fue el mejor tratamiento con efecto antimicrobiano seguido de los extractos etanólico y metanólico.

Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo” con respecto al control positivo (Penicilina) sobre crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ho: No existe una diferencia estadísticamente significativa en el Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa en el Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

Cuadro 7.7.-Análisis de varianza del Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Extracto	1764.76	2	882.378	100.35	0.0000
B:Dilucion	1714.85	3	571.616	65.01	0.0001
RESIDUOS	52.7583	6	8.79306		
TOTAL (CORREGIDO)	3532.36	11			

Dado que los dos valores de P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (%) con un 95.0% de nivel de confianza por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa.

Cuadro 7.8.- Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Extracto	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Etanólico	4	83.975	1.48265	X
Acuoso	4	109.65	1.48265	X
Metanólico	4	109.75	1.48265	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Acuoso - Etanólico	*	25.675	6.43358
Acuoso - Metanólico		-0.1	6.43358
Etanólico - Metanólico	*	-25.775	6.43358

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que la media del extracto acuoso y metanólico son significativamente diferente que la media del extracto etanólico con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

Se observó diferencias estadísticamente significativas entre los extractos acuoso y metanólico con respecto al extracto etanólico. Por lo que fueron el mejor tratamiento con efecto antimicrobiano seguido del extracto etanólico.

Porcentaje del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de los diferentes extractos de *A. sativum* “ajo” con respecto al control positivo (Vancomicina) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ho: No existe una diferencia estadísticamente significativa en el Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa en el Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) de los diferentes extractos *A. sativum* “ajo”.

Cuadro 7.9.-Análisis de varianza del Porcentaje de efecto inhibitorio relativo (PEIR)

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Extracto	5277.73	2	2638.87	99.45	0.0000
B:Dilucion	5132.96	3	1710.99	64.48	0.0001
RESIDUOS	159.215	6	26.5358		
TOTAL (CORREGIDO)	10569.9	11			

Dado que los dos valores de P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje del efecto inhibitorio relativo (%) con un 95.0% de nivel de confianza por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa.

Cuadro 7.10.-Prueba de Tukey para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Extracto	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Etanólico	4	145.15	2.57565	X
Acuoso	4	189.575	2.57565	X
Metanólico	4	189.7	2.57565	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Acuoso - Etanólico	*	44.425	11.1763
Acuoso - Metanólico		-0.125	11.1763
Etanólico - Metanólico	*	-44.55	11.1763

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que la media del extracto acuoso y metanólico son significativamente diferente que la media del extracto etanólico con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

Se observó diferencias estadísticamente significativas entre los extractos acuoso y metanólico con respecto al extracto etanólico. Por lo que fueron el mejor tratamiento con efecto antimicrobiano seguido del extracto etanólico.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa en el efecto antimicrobiano entre las tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol).

Cuadro 7.11.- Análisis de Varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Cloranfenicol)

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	315.733	4	78.9333	49.33	0.0000
Intra grupos	16.0	10	1.6		
Total (Corr.)	331.733	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol) con un nivel de confianza del 95,0%. Por lo tanto la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.12.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobianos entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición(mm)	Grupos Homogéneos
25	3	14.3333	X
50	3	21.0	X
75	3	23.6667	XX
0	3	26.3333	X
100	3	27.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 – 25	*	12.0	3.39931
0 – 50	*	5.33333	3.39931
0 – 75		2.66667	3.39931
0 – 100		-0.666667	3.39931
25 – 50	*	-6.66667	3.39931
25 – 75	*	-9.33333	3.39931
25 – 100	*	-12.6667	3.39931
50 – 75		-2.66667	3.39931
50 – 100	*	-6.0	3.39931
75 – 100		-3.33333	3.39931

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros podemos apreciar que la media del control y el extracto al 100% son significativamente diferentes a las medias del extracto al 25 % y 50% seguidos de la diferencia significativa del extracto al 75 % con respecto del extracto al 25 % y por ultimo la diferencia significativa del extracto al 50% con respecto del extracto al 25 % , con un nivel de confianza del 95 %, por lo tanto hay una diferencia del efecto inhibitorio entre los tratamientos y el control.

Interpretación

Se observó diferencias estadísticamente significativamente de las medias de la dilución del extracto acuoso de *Allium sativum* L. “ajo” al 25 % entre un nivel de dilución y otro.

El control positivo fue el mejor tratamiento seguido del extracto acuoso de *Allium sativum* L. “ajo” al 100 %.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. "ajo" sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina).

Cuadro7.13.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de *A. sativum* L. "ajo" y control positivo (Amikacina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	315.733	4	78.9333	49.33	0.0000
Intra grupos	16.0	10	1.6		
Total (Corr.)	331.733	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que o igual a 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.14.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Amikacina).

Dilución	Casos	Media halos de inhibición(mm)	Grupos Homogéneos
25	3	14.3333	X
50	3	21.0	X
75	3	23.6667	XX
0	3	26.3333	X
100	3	27.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	12.0	3.39931
0 - 50	*	5.33333	3.39931
0 - 75		2.66667	3.39931
0 - 100		-0.666667	3.39931
25 - 50	*	-6.66667	3.39931
25 - 75	*	-9.33333	3.39931
25 - 100	*	-12.6667	3.39931
50 - 75		-2.66667	3.39931
50 - 100	*	-6.0	3.39931
75 - 100		-3.33333	3.39931

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros podemos apreciar que la media del control y el extracto al 100% son significativamente diferentes a las medias del extracto al 25 % y 50% seguidos de la diferencia significativa del extracto al 75 % con respecto del extracto al 25 % y por ultimo la diferencia significativa del extracto al 50% con respecto del extracto al 25 % , con un nivel de confianza del 95%, por lo tanto hay una diferencia del efecto inhibitorio entre los tratamientos y el control.

Interpretación

Se observó diferencias estadísticamente significativamente de las medias de la dilución del extracto acuoso de *Allium sativum* L. “ajo” al 25 % entre un nivel de dilución y otro.

El control positivo fue el mejor tratamiento seguido del extracto acuoso de *Allium sativum* L. “ajo” al 100 %.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol)

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol)

Cuadro 7.15.- Análisis de Varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Cloranfenicol).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	470.667	4	117.667	15.35	0.0003
Intra grupos	76.6667	10	7.66667		
Total (Corr.)	547.333	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.16.-Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Cloranfenicol)

Dilución	Casos	Media De halos de inhibición (mm)	Grupos Homogéneos
25	3	11.0	X
50	3	19.0	X
75	3	21.0	X
100	3	26.0	X
0	3	26.3333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	15.3333	7.44105
0 - 50		7.33333	7.44105
0 - 75		5.33333	7.44105
0 - 100		0.333333	7.44105
25 - 50	*	-8.0	7.44105
25 - 75	*	-10.0	7.44105
25 - 100	*	-15.0	7.44105
50 - 75		-2.0	7.44105
50 - 100		-7.0	7.44105
75 - 100		-5.0	7.44105

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que la medias del control, el extracto etanólico al 100%, 75 % y 50 % son significativamente diferentes a la media del extracto etanólico al 25 %, con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

En los cuadros se observó, que no hay diferencias significativas entre las diluciones del extracto etanólico 100 % y el control positivo es decir ejercen el mismo efecto antimicrobiano, seguidos de las diluciones del extracto etanólico 50 %, 75 %.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina).

Cuadro 7.17.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto de Etanólico *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Amikacina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	470.667	4	117.667	15.35	0.0003
Intra grupos	76.6667	10	7.66667		
Total (Corr.)	547.333	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.18.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Amikacina)

Dilución	Casos	Media De halos de inhibición (mm)	Grupos Homogéneos
25	3	11.0	X
50	3	19.0	X
75	3	21.0	X
100	3	26.0	X
0	3	26.3333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	15.3333	7.44105
0 - 50		7.33333	7.44105
0 - 75		5.33333	7.44105
0 - 100		0.333333	7.44105
25 - 50	*	-8.0	7.44105
25 - 75	*	-10.0	7.44105
25 - 100	*	-15.0	7.44105
50 - 75		-2.0	7.44105
50 - 100		-7.0	7.44105
75 - 100		-5.0	7.44105

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que la medias del control, el extracto etanólico al 100%, 75 % y 50 % son significativamente diferentes a la media del extracto etanólico al 25 %, con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

En el cuadro se observa que no hay diferencias significativas entre el control positivo y las diluciones del extracto etanólico 100%, es decir ejercen el mismo efecto antimicrobiano, seguidos de las diluciones del extracto etanólico 75 % y 50%.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control negativo (agua destilada).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control negativo (agua destilada).

Cuadro7.19.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control negativo (agua destilada).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1239.6	4	309.9	40.78	0.0000
Intra grupos	76.0	10	7.6		
Total (Corr.)	1315.6	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control negativo (agua destilada) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.20.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control negativo (agua destilada).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición (mm)	Grupos Homogéneos
0	3	0	X
25	3	11.0	X
50	3	19.0	X
75	3	21.0	X
100	3	26.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	-11.0	7.40863
0 - 50	*	-19.0	7.40863
0 - 75	*	-21.0	7.40863
0 - 100	*	-26.0	7.40863
25 - 50	*	-8.0	7.40863
25 - 75	*	-10.0	7.40863
25 - 100	*	-15.0	7.40863
50 - 75		-2.0	7.40863
50 - 100		-7.0	7.40863
75 - 100		-5.0	7.40863

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que todas las medias de las diluciones del extracto etanólico son significativamente diferentes a la media del extracto etanólico al 25 % y al control negativo, con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

En el cuadro se observa diferencia significativa entre las diluciones del extracto Etanólico y el control negativo además no hay diferencia significativa entre las diluciones del extracto etanólico 50 %, 75 % y 100 % es decir ejercen el mismo efecto antimicrobiano.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol)

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Cloranfenicol)

Cuadro 7.21.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Cloranfenicol).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	505.333	4	126.333	52.64	0.0000
Intra grupos	24.0	10	2.4		
Total (Corr.)	529.333	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.22.-Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Cloranfenicol).

Dilución	Casos	Media De halos de inhibición(mm)	Grupos Homogéneos
25	3	10.0	X
50	3	19.6667	X
75	3	22.3333	XX
100	3	25.0	X
0	3	26.3333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	16.3333	4.16329
0 - 50	*	6.66667	4.16329
0 - 75		4.0	4.16329
0 - 100		1.33333	4.16329
25 - 50	*	-9.66667	4.16329
25 - 75	*	-12.3333	4.16329
25 - 100	*	-15.0	4.16329
50 - 75		-2.66667	4.16329
50 - 100	*	-5.33333	4.16329
75 - 100		-2.66667	4.16329

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que las media del control, el extracto metanólico al 100%, presentan diferencias estadísticamente significativas a la media del extracto metanólico al 25 % y 50 %, también presentan diferencias significativas en los extractos etanólicos al 50 % y 75 % con respecto al extracto etanólico al 25 %, con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

En el cuadro se observa, que no hay diferencias significativas entre las diluciones del extracto metanólico 75 % y 100 % con el control positivo, es decir ejercen el mismo efecto antimicrobiano seguidos de las diluciones del extracto etanólico 50 % y 25 %.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina).

Cuadro7.23.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto de Metanólico *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Amikacina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	516.933	4	129.233	53.85	0.0000
Intra grupos	24.0	10	2.4		
Total (Corr.)	540.933	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Amikacina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.24.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Amikacina).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición	Grupos Homogéneos
25	3	10.0	X
50	3	19.6667	X
75	3	22.3333	XX
100	3	25.0	XX
0	3	26.6667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	16.6667	4.16329
0 - 50	*	7.0	4.16329
0 - 75	*	4.33333	4.16329
0 - 100		1.66667	4.16329
25 - 50	*	-9.66667	4.16329
25 - 75	*	-12.3333	4.16329
25 - 100	*	-15.0	4.16329
50 - 75		-2.66667	4.16329
50 - 100	*	-5.33333	4.16329
75 - 100		-2.66667	4.16329

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se aprecia que la medias del control, el extracto metanólico al 100%, presentandiferencias estadísticamente significativas a la media del extracto metanólico al 25 %y 50 %, también presentan diferencias estadísticamente significativasen los extractos etanólicos al 50 % y 75 % con respecto al extracto etanólico al 25 %, con un nivel de confianza del 95%.

Interpretación

En el cuadro se observa, que no hay diferencias significativas entre las diluciones del extracto metanólico 75 % y 100 % con el control positivo, es decir ejercen el mismo efecto antimicrobiano seguidos de las diluciones del extracto etanólico 50 % y 25 %.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina).

Cuadro7.25.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Penicilina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	191.067	4	47.7667	3.66	0.0439
Intra grupos	130.667	10	13.0667		
Total (Corr.)	321.733	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que o igual a 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.26.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Penicilina).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición	Grupos Homogéneos
25	3	34.3333	X
0	3	36.3333	X
50	3	38.6667	XX
75	3	43.0	X
100	3	43.3333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25		2.0	6.57628
0 - 50		-2.33333	6.57628
0 - 75	*	-6.66667	6.57628
0 - 100	*	-7.0	6.57628
25 - 50		-4.33333	6.57628
25 - 75	*	-8.66667	6.57628
25 - 100	*	-9.0	6.57628
50 - 75		-4.33333	6.57628
50 - 100		-4.66667	6.57628
75 - 100		-0.33333	6.57628

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se observó dos grupos homogéneos y las medias de los tratamientos se traslapan entre ellos, por lo que las diferencias estadísticamente significativas entre ellos no es muy grande.

Interpretación

Entre el extracto acuoso al 100% y 75 % no se observó diferencias estadísticamente significativas es decir tienen el mismo efecto inhibitorio seguido de las diluciones del extracto acuoso 50 %, 25 % y el control positivo.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina).

Cuadro 7.27.- Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto acuoso de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Vancomicina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1012.93	4	253.233	19.48	0.0001
Intra grupos	130.0	10	13.0		
Total (Corr.)	1142.93	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que o igual a 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.28.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Vancomicina).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición (mm)	Grupos Homogéneos
0	3	21.0	X
25	3	34.3333	X
50	3	38.6667	X
75	3	43.0	X
100	3	43.3333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	-13.3333	9.68953
0 - 50	*	-17.6667	9.68953
0 - 75	*	-22.0	9.68953
0 - 100	*	-22.3333	9.68953
25 - 50		-4.33333	9.68953
25 - 75		-8.66667	9.68953
25 - 100		-9.0	9.68953
50 - 75		-4.33333	9.68953
50 - 100		-4.66667	9.68953
75 - 100		-0.333333	9.68953

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se observa que todas las medias de las diluciones del extracto acuoso son significativamente diferentes a la media del control positivo.

Interpretación

Todas las diluciones del extracto Acuoso de *A. sativum* “ajo” tienen mayor efecto inhibitorio que el control positivo.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina)

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina).

Cuadro7.29.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Penicilina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	419.333	4	104.833	27.59	0.0000
Intra grupos	38.0	10	3.8		
Total (Corr.)	457.333	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que o igual a 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.30.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Penicilina).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición	Grupos Homogéneos
25	3	23.0	X
50	3	28.0	X
100	3	35.3333	X
75	3	35.6667	X
0	3	36.3333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25	*	13.3333	5.23869
0 - 50	*	8.33333	5.23869
0 - 75		0.666667	5.23869
0 - 100		1.0	5.23869
25 - 50		-5.0	5.23869
25 - 75	*	-12.6667	5.23869
25 - 100	*	-12.3333	5.23869
50 - 75	*	-7.66667	5.23869
50 - 100	*	-7.33333	5.23869
75 - 100		0.333333	5.23869

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros muestran que las medias del control positivo, el extracto etanólico al 100% y 75% presentan diferencias estadísticamente significativas frente extracto etanólico al 50 % y 25 %.

Interpretación

El extracto etanólico al 100 %, 75 % de *A. sativum* “ajo” y el control positivo (Penicilina) no presentan diferencias significativas, por lo que poseen el mismo efecto inhibitorio, seguidos de extracto etanólico de *A. sativum* al 50% y 25 %.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina).

Cuadro7.31.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Etanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Vancomicina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	554.267	4	138.567	37.12	0.0000
Intra grupos	37.3333	10	3.73333		
Total (Corr.)	591.6	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que o igual a 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo(Vancomicina)con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.32.-Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Vancomicina).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición	Grupos Homogéneos
0	3	21.0	X
25	3	23.0	XX
50	3	28.0	X
100	3	35.3333	X
75	3	35.6667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25		-2.0	5.19253
0 - 50	*	-7.0	5.19253
0 - 75	*	-14.6667	5.19253
0 - 100	*	-14.3333	5.19253
25 - 50		-5.0	5.19253
25 - 75	*	-12.6667	5.19253
25 - 100	*	-12.3333	5.19253
50 - 75	*	-7.66667	5.19253
50 - 100	*	-7.33333	5.19253
75 - 100		0.333333	5.19253

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se observó en las medias del extracto etanólico al 100 % y 75% Presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto a las medias del extracto etanólico al 50 %, 25 % y control positivo.

Interpretación

El extracto etanólico al 75% y 100 % de *A. sativum* "ajo", no presentan diferencias estadísticamente significativas por lo que poseen el mismo efecto inhibitorio, seguidos de los extractos etanólicos al 50 %, 25 % de *A. sativum* "ajo" y el control positivo (Vancomicina).

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Penicilina).

Cuadro 7.33.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto Metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Penicilina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	229.733	4	57.4333	1.50	0.2753
Intra grupos	384.0	10	38.4		
Total (Corr.)	613.733	14			

Dado que el valor P de la prueba F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del diámetro de los halos de inhibición de entre un nivel de dilución y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Por lo tanto la hipótesis alternativa no se acepta.

Comparación entre los tratamientos y los controles del efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* L. “ajo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ho: No Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina).

H1: Existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina).

Cuadro 7.34.-Análisis de varianza del efecto antimicrobiano de las diluciones del extracto metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y control positivo (Vancomicina).

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1051.6	4	262.9	6.86	0.0063
Intra grupos	383.333	10	38.3333		
Total (Corr.)	1434.93	14			

Dado que el valor P de la prueba F es menor que o igual a 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa del efecto antimicrobiano entre los tratamientos o entre los tratamientos y el control positivo (Vancomicina) con un nivel de confianza del 95,0%, entonces la hipótesis alternativa se acepta.

Cuadro 7.35.- Prueba de Tukey para saber si la diferencia en el efecto antimicrobiano es entre los tratamientos o entre los tratamientos y control positivo (Vancomicina).

Dilución	Casos	Media de halos de inhibición	Grupos Homogéneos
0	3	21.0	X
25	3	33.6667	XX
50	3	38.6667	X
75	3	43.0	X
100	3	44.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 25		-12.6667	16.6387
0 - 50	*	-17.6667	16.6387
0 - 75	*	-22.0	16.6387
0 - 100	*	-23.0	16.6387
25 - 50		-5.0	16.6387
25 - 75		-9.33333	16.6387
25 - 100		-10.3333	16.6387
50 - 75		-4.33333	16.6387
50 - 100		-5.33333	16.6387
75 - 100		-1.0	16.6387

* indica una diferencia significativa.

En los cuadros se observó en las medias del extracto metanólico al 100 %, 75% y 50 % presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto a las medias del control positivo.

Interpretación

El extracto etanólico al 100 % y 75% de *A. sativum* “ajo”, no presentan diferencias estadísticamente significativas por lo que poseen el mismo efecto inhibitorio, seguidos de los extractos metanólico al 50 %, 25 % de *A. sativum* “ajo” y el control positivo (Vancomicina).

ANEXOS 3.- Efecto antimicrobiano entre los tratamientos y controles positivos

- ❖ Efecto antimicrobiano de las concentraciones del extracto acuoso de *A. sativum* y controles positivos sobre *E. coli*.

En las Figuras 3.5., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA el valor $p < 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza, existe diferencia estadísticamente significativa de las medias, del efecto antimicrobiano del extracto acuoso al 100 % de *A. sativum* y de los controles con respecto a las medias del extracto acuoso 25 % de *A. sativum*, seguidos de las diferencias estadísticamente significativas de las medias del extracto acuoso al 75 % y 50 % frente a las medias del extracto acuoso al 25 % de *A. sativum*.

Entre el extracto acuoso al 100% de *A. sativum*, Amikacina (MK) y Cloranfenicol (C), no se observaron diferencias estadísticamente significativas, porque, poseen similar efecto inhibitorio siendo los mejores tratamientos seguidos de las concentraciones de 75 %, 50 % y 25 % del extracto acuoso de *A. sativum*.

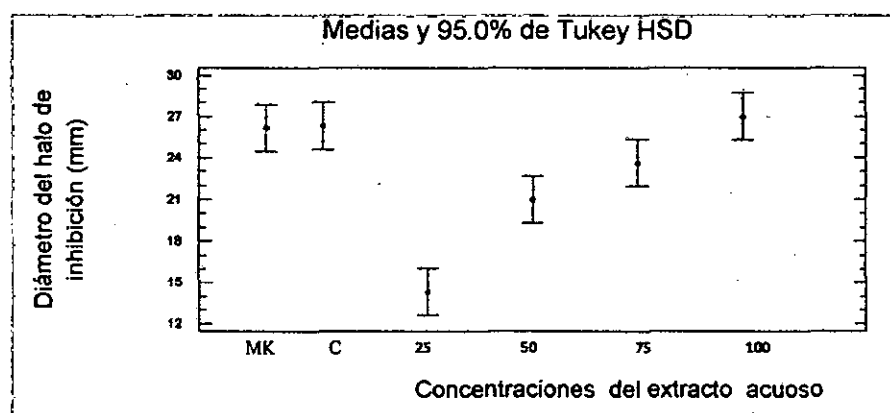


Figura 7.1.- Diámetros de halos de inhibición respecto a las concentraciones del extracto acuoso de *A. sativum* "ajo" y controles positivos sobre *E. coli*.

- ❖ Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Allium sativum* L. “ajo” y controles positivos sobre *E. coli*.

En las Figuras 3.6., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA el valor $p < 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza, existe diferencia estadísticamente significativa de las medias del efecto antimicrobiano, de los controles y extracto etanólico al 100 % de *A. sativum* con respecto a las medias del extracto etanólico al 25 % de *A. sativum*, seguidos de las diferencias estadísticamente significativas de las medias del extracto etanólico al 75 % y 50 % frente a las medias del extracto etanólico al 25 % de *A. sativum*.

En los controles Amikacina (MK), Cloranfenicol (C) y el extracto etanólico al 100% de *A. sativum*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, porque poseen similar efecto inhibitorio siendo los mejores tratamientos, seguidos de las concentraciones de 75 %, 50 % y 25 % del extracto etanólico de *A. sativum*.

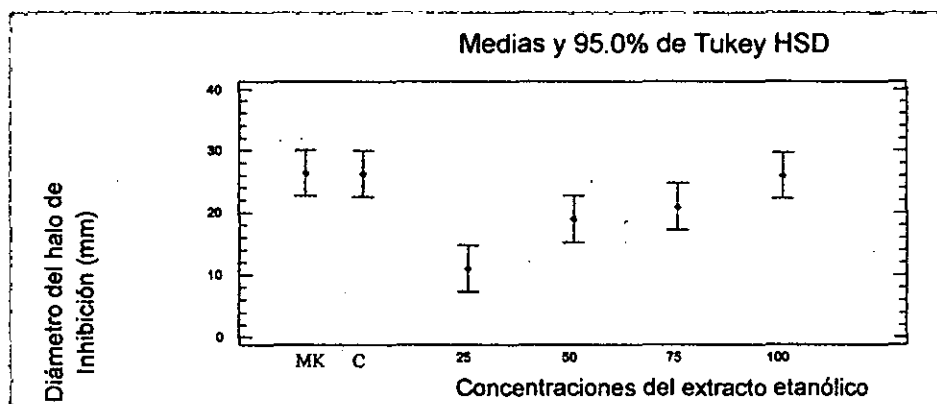


Figura 7.2.- Diámetros de halos de inhibición respecto a las concentraciones del extracto etanólico de *A. sativum* “ajo” y controles positivos sobre *E. coli*.

- ❖ Efecto antimicrobiano del extracto metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y controles positivos sobre *E. coli*.

En las Figuras 3.7., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA el valor $p < 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza, existe diferencia estadísticamente significativa de las medias del efecto antimicrobiano, de los controles y extracto metanólico al 100 % de *A. sativum* con respecto a las medias del extracto metanólico al 25 % de *A. sativum*, seguidos de las diferencias estadísticamente significativas de las medias del extracto metanólico al 75 % y 50 % frente a las medias del extracto metanólico al 25 % de *A. sativum*.

Entre los controles Amikacina (MK), Cloranfenicol(C) y el extracto metanólico al 100% de *A. sativum*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, porque poseen similar efecto inhibitorio y fueron los mejores tratamientos seguidos de las concentraciones de 75 %, 50 % y 25 % del extracto metanólico de *A. sativum*.

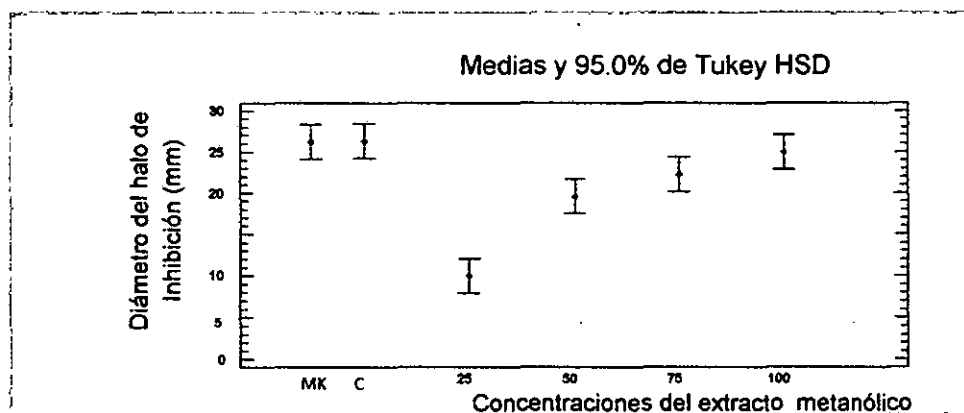


Figura 7.3.- Diámetros de halos de inhibición respecto a las concentraciones del extracto metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y controles positivos sobre *E. coli*.

- ❖ Efecto antimicrobiano del extracto acuoso de *A. sativum* L. “ajo” y Vancomicina sobre *S. aureus*.

En las Figuras 3.9., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA el valor $p < 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza. Existe una diferencia estadísticamente significativa de las medias del efecto antimicrobiano de los extractos acuoso al 100 %,75 %, 50 % y 25 % de *A. sativum* respecto al control positivo Vancomicina. Y también se observan en menor grado diferencias estadísticamente significativas de las medias de los extractos acuoso de *A. sativum*, frente al control positivo Penicilina, ya que los intervalos de sus medias del efecto antimicrobiano se traslapan con las líneas verticales.

Entre el extracto acuoso al 100% y 75 % de *A. sativum* no presentaron una diferencia estadísticamente significativa, porque poseen similar efecto inhibitorio. Por lo que fueron el mejor tratamiento, seguidos del extracto acuoso al 50%, Penicilina extracto acuoso al 25 % y finalmente de Vancomicina.

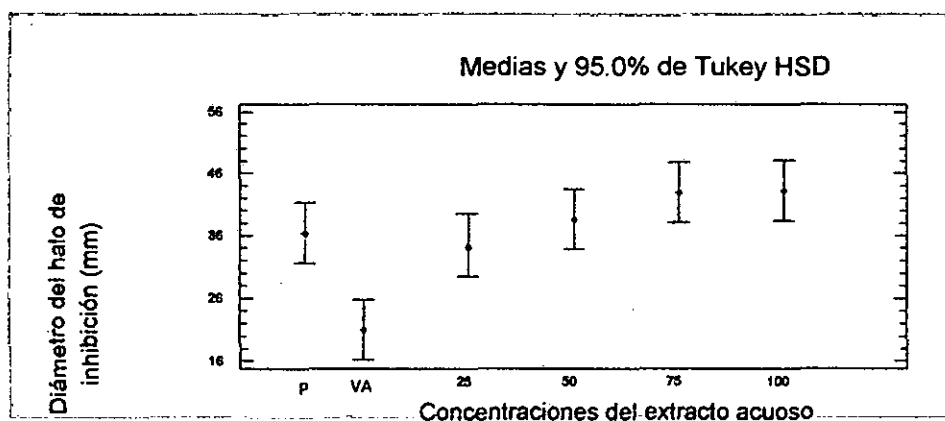


Figura 7.4.-Diámetros de halos de inhibición respecto a las diluciones del extracto acuoso de *A. sativum* “ajo” y controles positivos sobre *S. aureus*.

- ❖ Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *A. sativum* L. “ajo” y controles positivos sobre *S. aureus*.

En las Figuras 3.10., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA el valor $p < 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza. Existe diferencia estadísticamente significativa de las medias del efecto antimicrobiano, de los extractos etanólicos al 100 %, 75 %, 50 % y 25 % de *A. sativum* respecto a la media del control positivo Vancomicina. Y también se observan diferencias estadísticamente significativas, de las medias del efecto inhibitorio del control positivo Penicilina y de las medias de los extractos etanólicos al 100 % 75 % frente a los extractos etanólicos al 50 %, 25 % de *A. sativum*.

Entre el control positivo Penicilina y los extracto etanólico al 100 % y 75 % de *A. sativum* no presentaron diferencia estadísticamente significativa, porque se traslapan entre ellos con las líneas verticales. Por lo que fueron el mejor tratamiento, seguidos del extracto etanólico al 50 %, 25 % de *A. sativum* y finalmente de Vancomicina.

Los extracto etanólico al 100 %, 75 % y 50 % de *A. sativum* superaron el efecto del control Vancomicina.

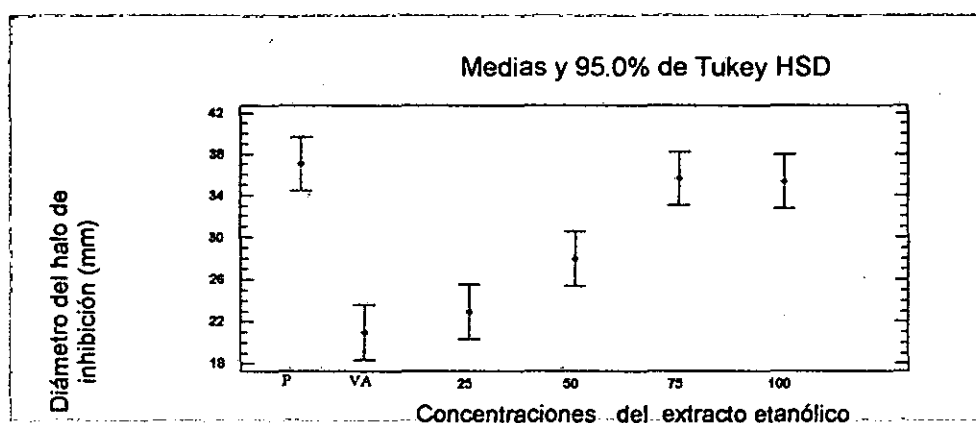


Figura 7.5.-Diámetros de halos de inhibición respecto a las diluciones del extracto etanólico de *A. sativum* “ajo” y controles positivos sobre *S. aureus*.

❖ Efecto antimicrobiano del extracto metanólico de *A. sativum* L. “ajo” y Vancomicina sobre *S. aureus*.

En las Figuras 3.11., de acuerdo a las pruebas estadísticas ANOVA el valor $p > 0.05$ con un nivel del 95.0 % de confianza, no existe una diferencia estadísticamente significativa en las medias del efecto inhibitorio de los extractos metanólicos de *A. sativum* y las medias del control positivo Penicilina, porque las líneas verticales traslapan con los intervalos de los extractos metanólicos.

Y respecto al control positivo Vancomicina las pruebas estadísticas ANOVA el valor $p > 0.05$ con un nivel del 95.0% de confianza, existe una diferencia estadísticamente significativa en las medias del efecto inhibitorio de los extractos metanólicos al 100 %, 75 % y 50 %, presentan diferencias estadísticamente significativas respecto a las medias del control positivo Vancomicina .

Entre los extractos metanólicos de *A. sativum* “ajo” y control positivo Penicilina, no presentan diferencias estadísticamente significativas por lo que poseen el similar efecto inhibitorio y superaron el efecto inhibitorio del control positivo Vancomicina.

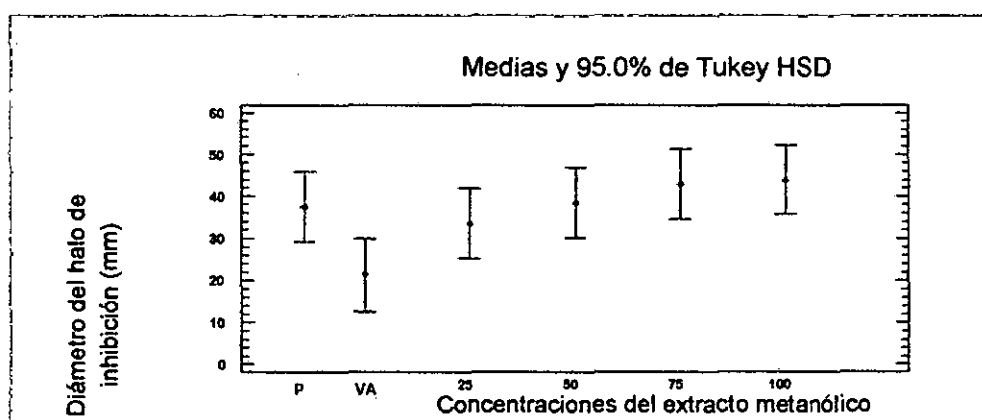


Figura 7.6.-Diámetros de halos de inhibición respecto a las diluciones del extracto metanólico de *A. sativum* “ajo” y controles positivos sobre *S. aureus*.

ANEXOS 4.- Estándares interpretativos de sensibilidad bacteriana.

INS²⁷.

Cuadro 7.36.-Sensibilidad bacteriana a los antibióticos de acuerdo con el diámetro de los halos de inhibición para estafilococos.

Grupo Antimicrobiano	Carga del	Diámetro del halo de inhibición en(mm)			<i>S. aureus</i> ATCC 25923 Intervalo
		R	I	S	
	disco(µg)	R	I	S	
PENICILINAS					
Penicilina	10 unidades	≤28	-	≥29	26-37
GLICOPEPTIDOS					
Vancomicina	30	-	-	≥15	17-21

Cuadro 7.37.-Sensibilidad bacteriana a los antibióticos de acuerdo con el diámetro de los halos de inhibición para enterobacterias.

Grupo Antimicrobiano	Carga del disco(μg)	diámetro del halo de inhibición en (mm)			<i>E. Coli</i> ATCC 25922 Intervalo
		R	I	S	
AMINOGLUCOSIDOS					
Amikacina	30	≤14	15-16	≥17	19-26
OTROS					
Cloranfenicol	30	≤12	13-17	≥18	21-27

Cuadro 7.38.- valores críticos del antibiograma, los valores de las concentraciones y de los diámetros críticos que delimitan las categorías sensibles, intermedias y resistentes.

Categorías	Concentración inhibitoria Mínima (ml/l)	Diámetro del halo de inhibición (mm)
S	$CIM \leq c$	$DHI \geq D$
R	$CIM > C$	$DHI < d$
I	$c < CIM \leq C$	$d \leq DHI < D$

Sensible(S), resistente(R) y intermedio (I).

Concentraciones bajas (b) y altas (C); diámetros correspondientes (d, D)

ANEXOS 4.- Figuras

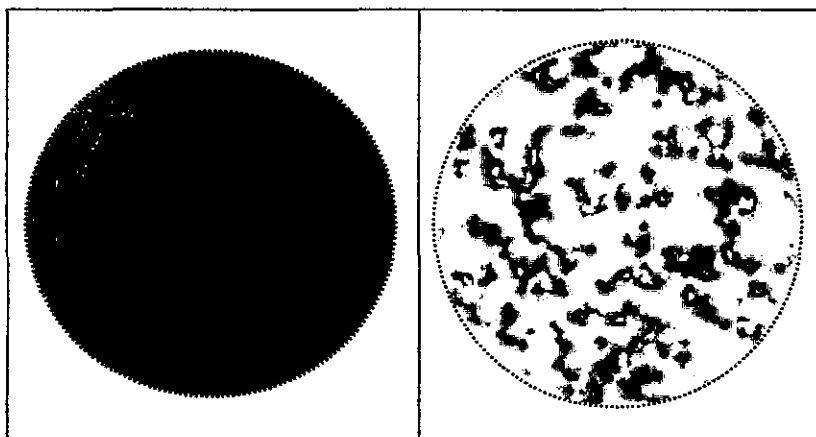


Figura 7.7.- Características macroscópicas y microscópicas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

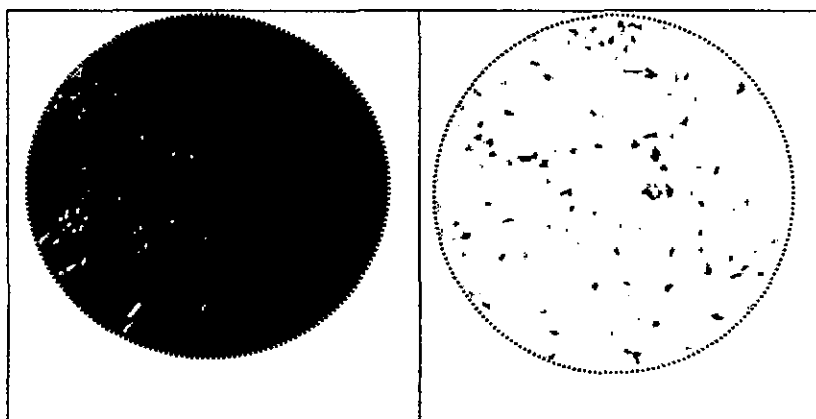


Figura 7.8.- Características macroscópicas y microscópicas de *Escherichia coli* ATCC 25922

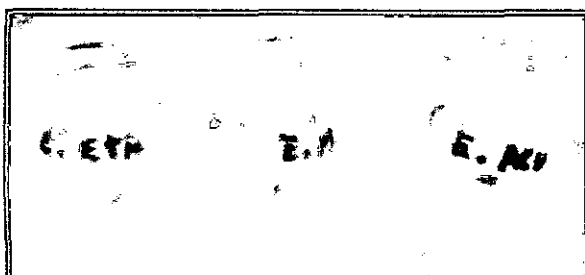


Figura 7.9.- Detección de flavonoides negativa por reacción de Shinoda en extractos de *A. sativum*.

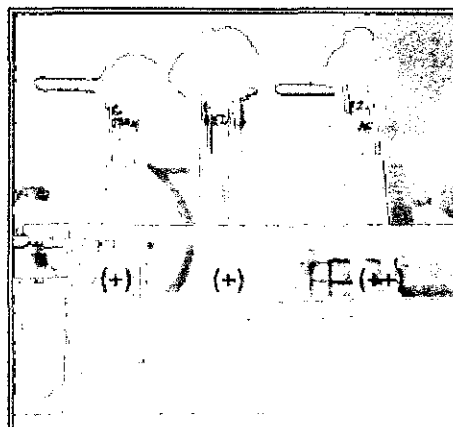


Figura 7.10.-Presencia de saponinas por prueba de la espuma en extractos de *A. sativum*.

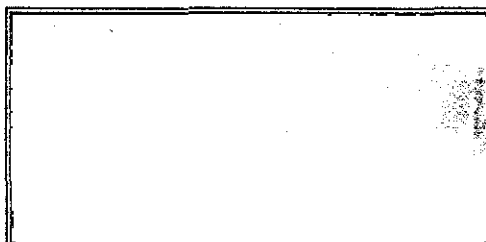


Figura7.11.-Presencia de taninos negativa mediante reacción con cloruro férrico en extractos de *A. sativum*.

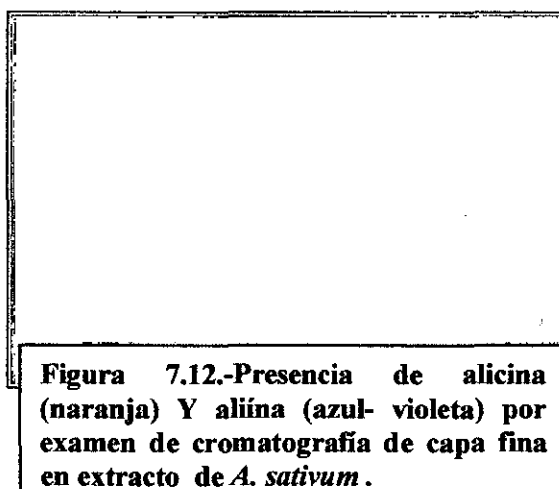


Figura 7.12.-Presencia de alicina (naranja) Y aliina (azul- violeta) por examen de cromatografía de capa fina en extracto de *A. sativum*.

Identificación de aliína y alicina mediante Cromatografía en Capa Fina

25 g. del extracto fresco de ajo se colocaron con 2 porciones de 100 ml de metanol al 80%. Se purifica por cromatografía en capa fina, se controlan las fracciones con Reactivo de ninhidrina.

Fase estacionaria: Sílica gel 60

Fase móvil: n-Butanol : n-Propanol : Acido acético: Agua (30 : 10 : 10 : 10)

Revelador: Ninhidrina

Aplicación de la muestra

La muestra se aplica añadiendo pequeñas gotas de solución del extracto del ajo en un pequeño círculo cerca del extremo inferior de la placa sílica gel 60 se deja secar. La placa seca se sumerge en un pequeño volumen de la fase móvil mezcla de los solventes, n-Butanol : n-Propanol : Acido acético: Agua (30 : 10 : 10 : 10), luego la placa desarrollada se deja secar y se revela con reactivo ninhidrina. Se obtiene el Factor de Retardo (Rf) para cada reacción revelada midiendo la distancia recorrida por cada aminoácido en la combinación de solventes, desde el punto de origen en la línea base de la placa, donde se coloca la muestra, y el centro de cada una de las reacciones reveladas. Luego se calcula el cociente de cada una de las distancias con respecto al recorrido del frente del solvente. La identificación de los aminoácidos, se realiza comparando los Rf % de cada una de las reacciones positivas a la ninhidrina desarrollada a partir de la muestra de extracto de ajo, con los Rf % obtenidos de las muestras de las soluciones patrones.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
LABORATORIO DE SERVICIOS A LA COMUNIDAD E INVESTIGACION



LASACI
REPORTE DE ANÁLISIS

SOLICITANTE : LENY SALAZAR CORDOVA
MUESTRA : EXTRACTO DE AJO BLANCO
PROCEDENCIA : PIURA
FECHA DE INGRESO : 02 DE JUNIO DEL 2014

MUESTRA PUESTA EN EL LABORATORIO

MUESTRA	COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCIÓN	COLOR DE IDENTIFICACIÓN
EXTRACTO DE AJO BLANCO	ALICINA	0,36	NARANJA
	ALÍNA	0,27	AZUL-VIOLETA

METODO: CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

TRUJILLO, 16 DE JUNIO DEL 2014



ING. NOÉ COSTILIA SÁNCHEZ

AGUAS - SUELOS - ALIMENTOS - MINERALES - ACEITE - CARBON - CAL
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA

Figura 7.13.-Reporte de análisis de cromatografía en capa fina.

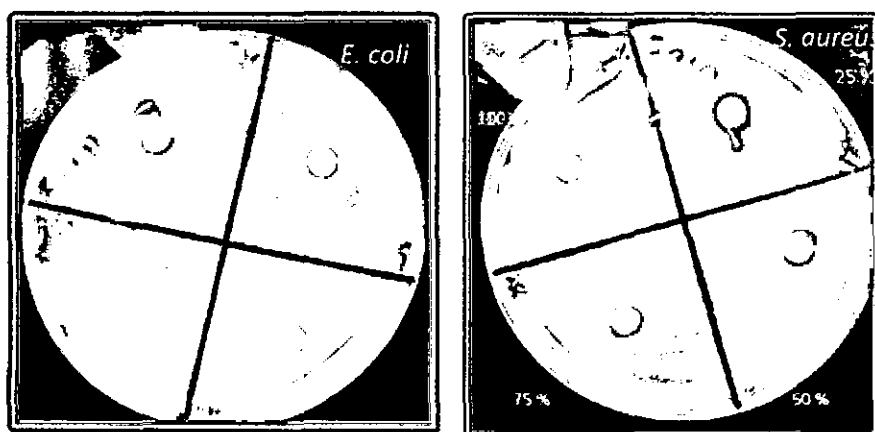


Figura 7.14.-Concentraciones de extracto acuoso de *A. sativum* sobre cepas bacterianas.

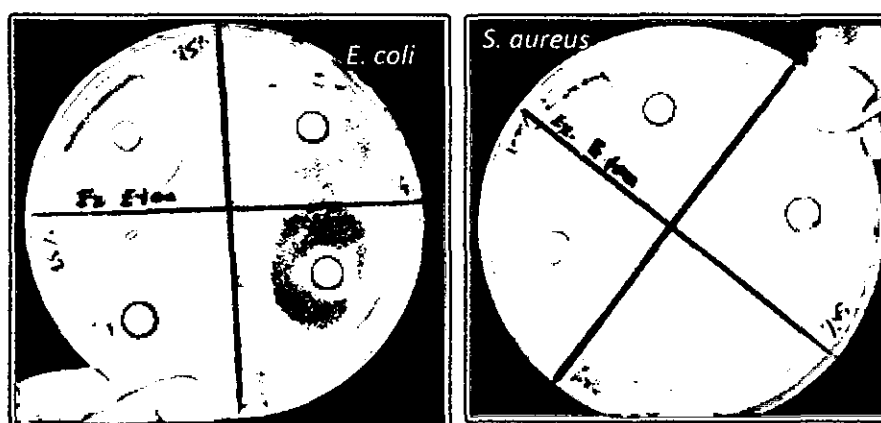


Figura 7.15.-Concentraciones de extracto etanólico de *A. sativum* sobre cepas bacterianas.

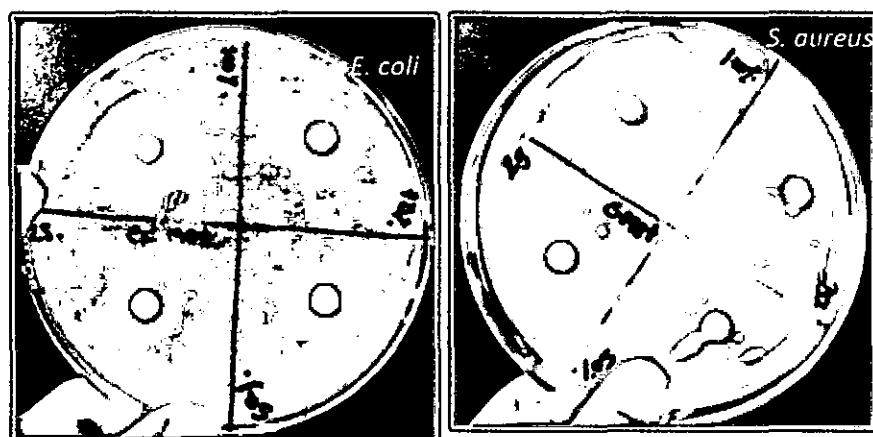


Figura 7.16.-Concentraciones de extracto metanólico de *A. sativum* sobre cepas bacterianas.



Figura 7.17.- Discos de sensibilidad (controles positivos)

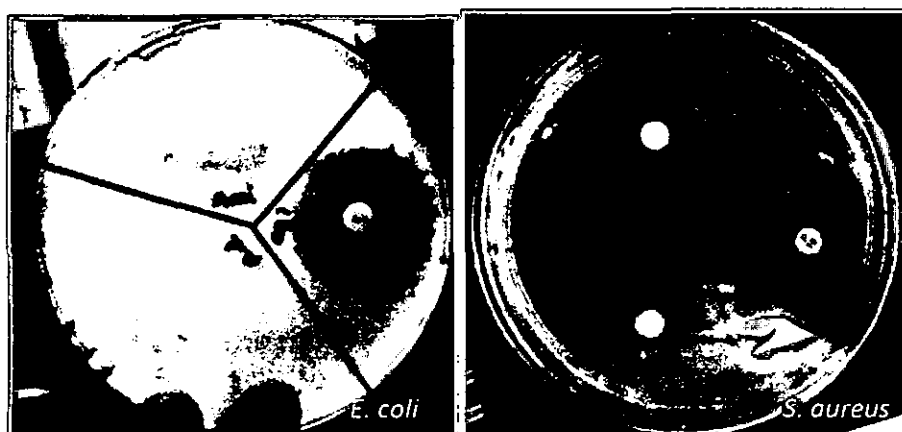


Figura 7.18.-E. coli : Amikacina(MK30), Cloranfenicol (C30), agua destilada estéril

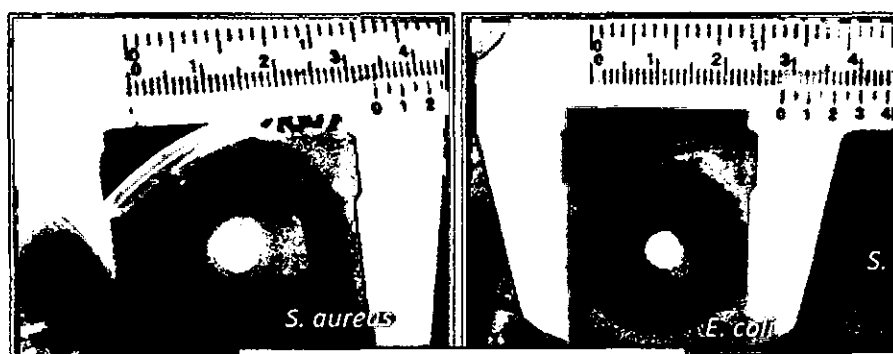
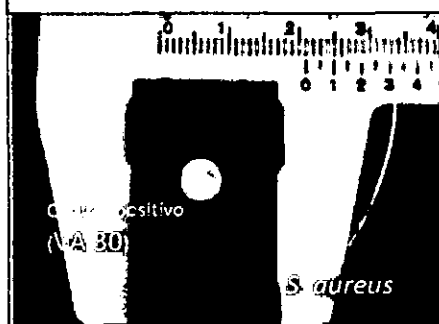


Figura 7.19.-Medición de halos de inhibición de extracto de ajo y control positivo.



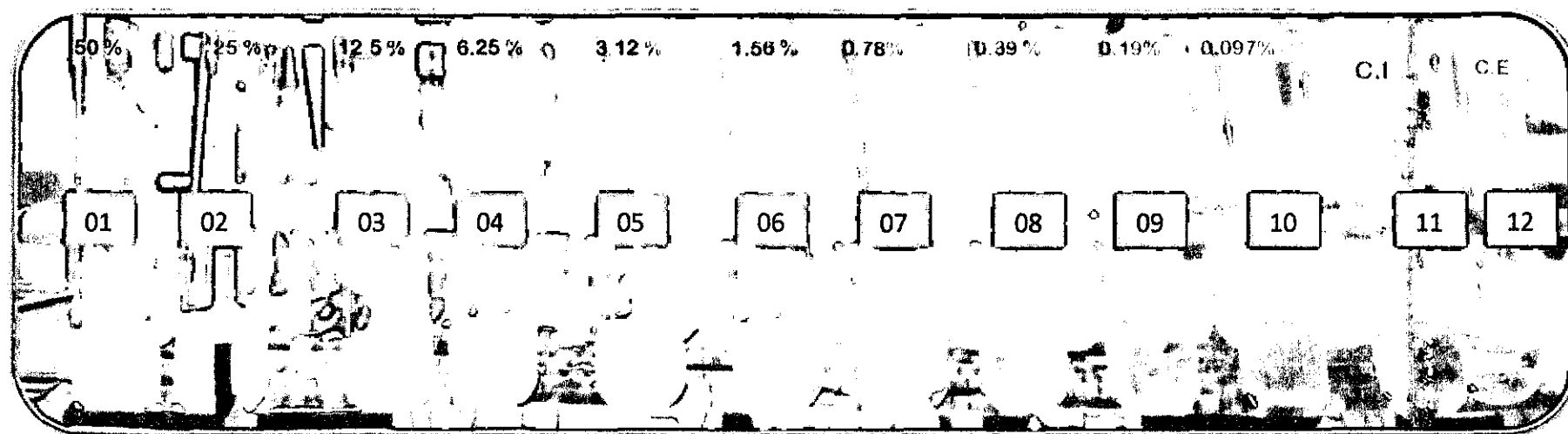


Figura 7.20.-Serie de tubos con concentraciones crecientes del antibiótico (solución de extracto de ajo) en el medio de cultivo .

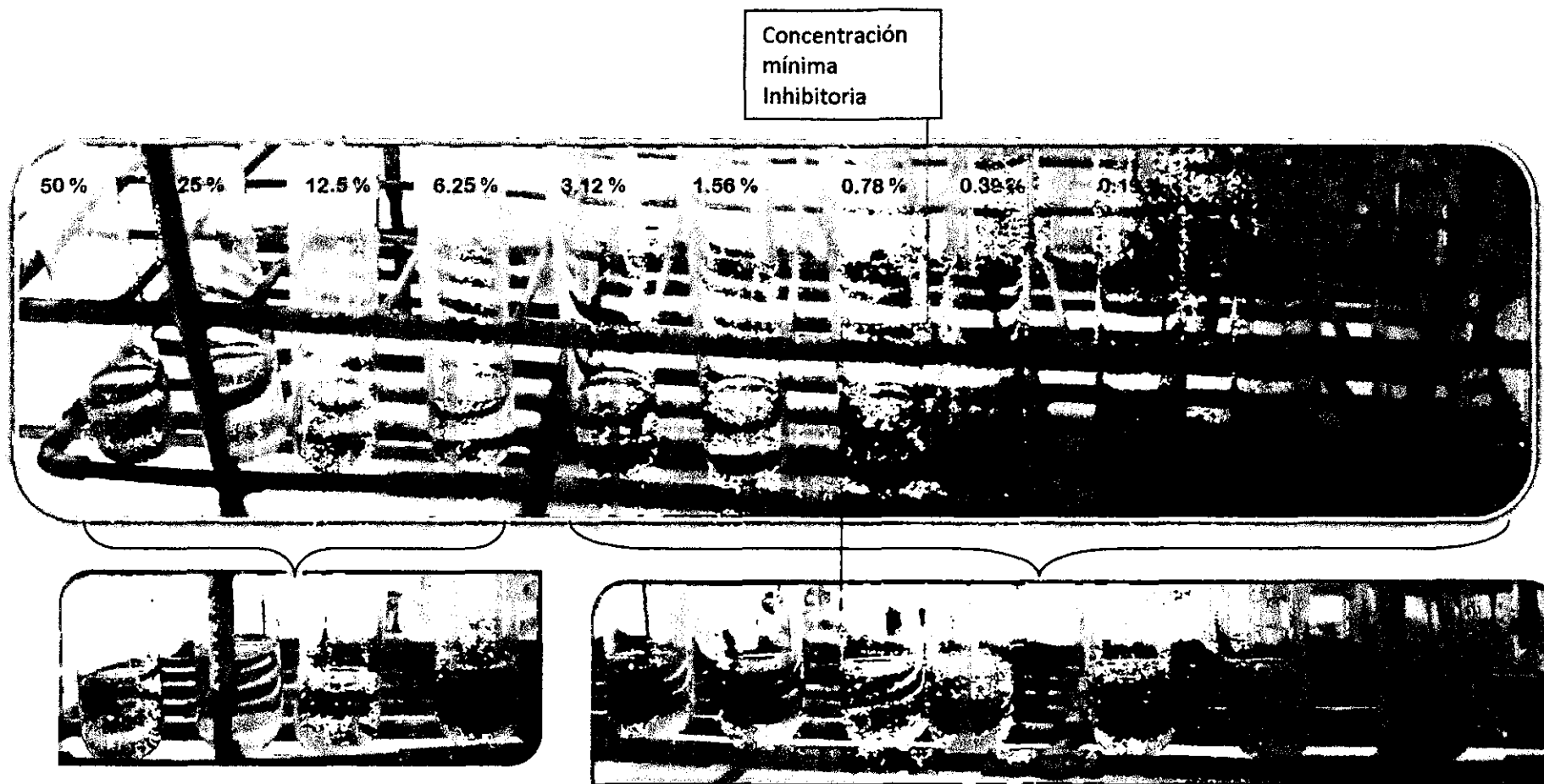


Figura 7.21.-Después de la incubación, se observa el crecimiento (turbidez) en los tubos. El tubo que contiene la menor concentración de agente (*Allium sativum*) que inhibe el crecimiento de los organismos (*Escherichia coli* o *Staphylococcus aureus*) usado como referencia define la CMI. Madigan⁴².

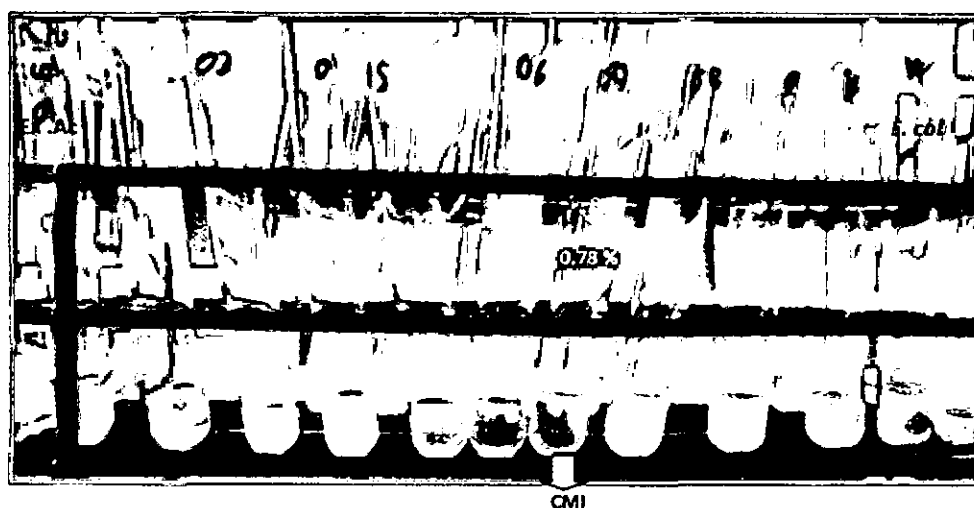


Figura 7.22.-CMI del extracto acuoso (Ex. Ac) de *A. sativum* en inoculo (*Escherichia coli* ATCC 25922) corresponde al tubo n°07.

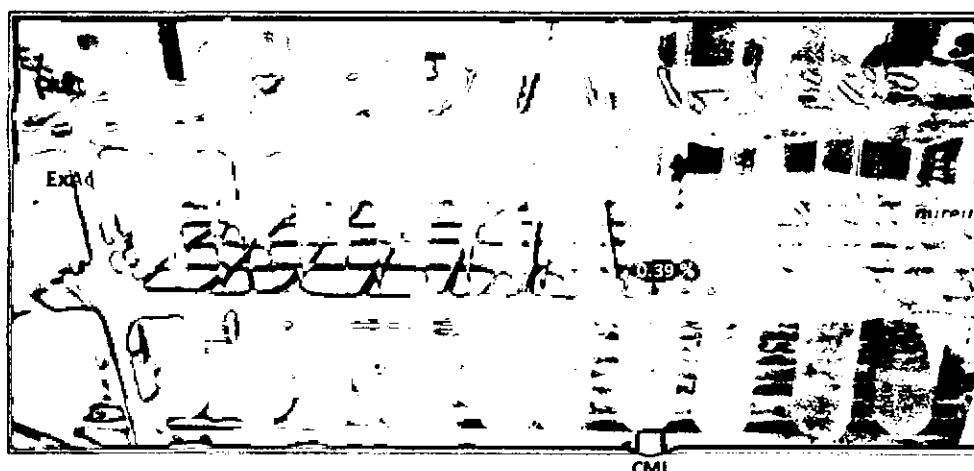


Figura 7.23.-CMI del extracto acuoso (Ex. Ac) de *A. sativum* en inoculo (*Staphylococcus aureus* ATCC 25922) que corresponde al tubo n° 08.

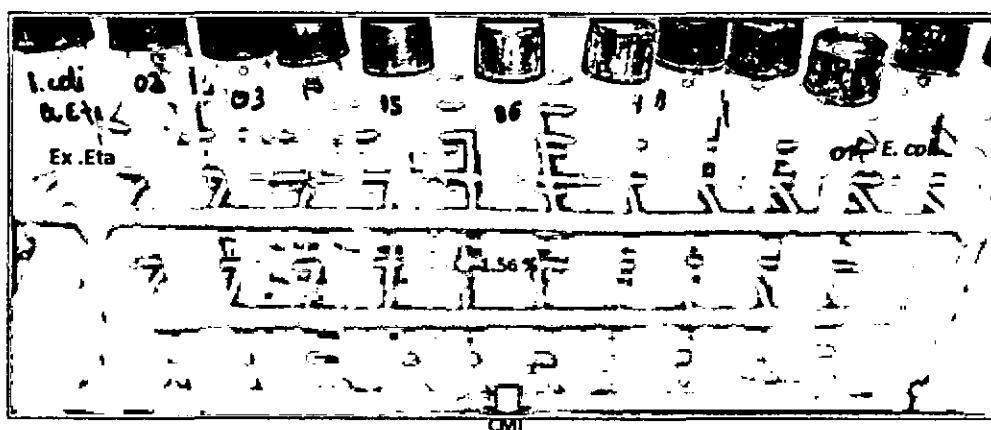


Figura 7.24.-CMI del extracto etanólico (Ex. Eta) de *A. sativum* en inoculo (*Escherichia coli* ATCC 25922) que corresponde al tubo n° 06.

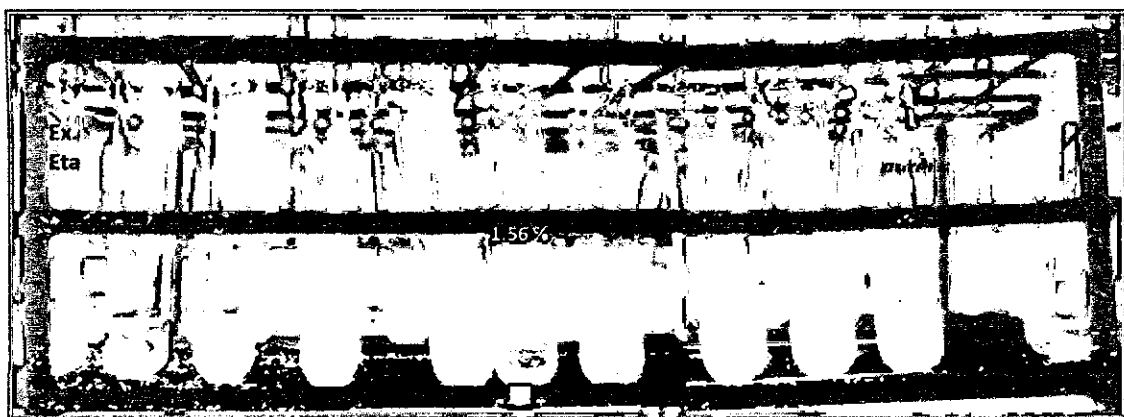


Figura 7.25.-CMI del extracto etanólico (Ex. Eta) de *A. sativum* en inoculo (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) que corresponde al tubo n° 06.

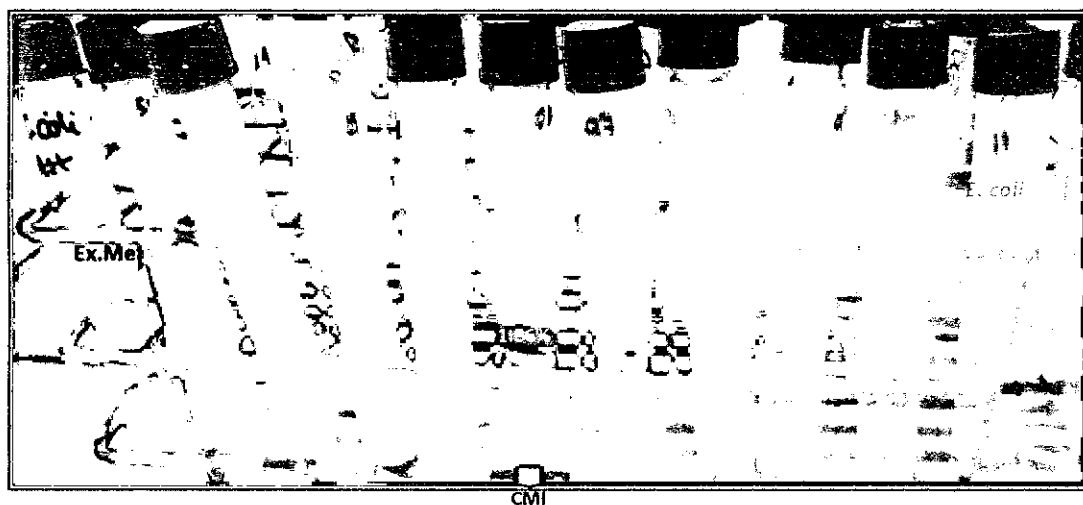


Figura 7.26.-CMI del extracto metanólico (Ex. Met) de *A. sativum* en inoculo (*Escherichia coli* ATCC 25922) que corresponde al tubo n° 06.

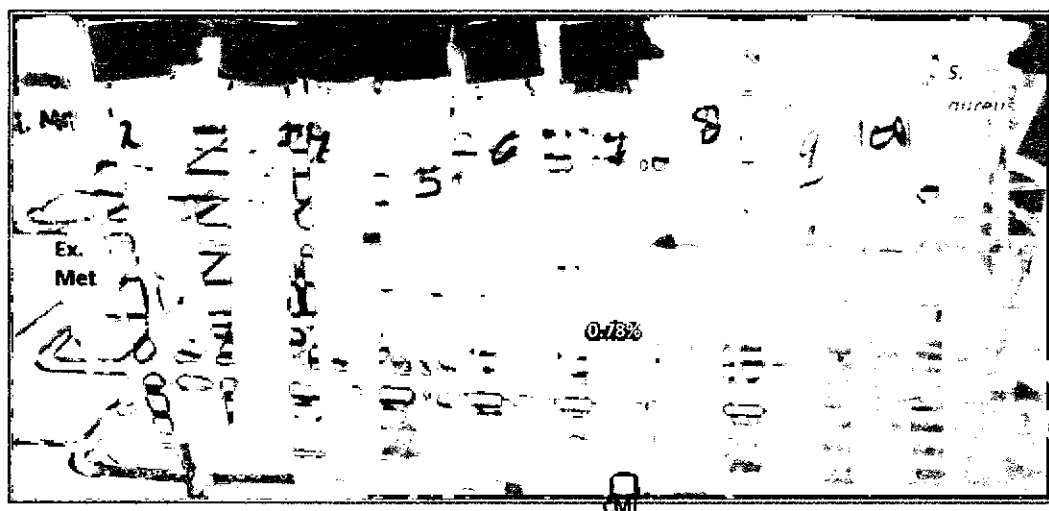


Figura 7.27.-CMI del extracto metanólico (Ex. Met) de *A. sativum* en inoculo (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) que corresponde al tubo n° 07.